

# PESQUISAS

---

ZOOLOGIA, nº 32

Ano de 1979

---

ISSN 0373 - 8418

Guido Rummler

EFEITO DE DEFICIÊNCIA OLFATÓRIA EXPERI-  
MENTAL SOBRE A GLICEMIA DE **CHRYSEMYS**  
**DORBIGNI (CHELONIA)**

---

INSTITUTO ANCHIETANO DE PESQUISAS

São Leopoldo - Praça Tiradentes, 35 - Rio Grande do Sul - Brasil

---

# INSTITUTO ANCHIETANO DE PESQUISAS

São Leopoldo — Praça Tiradentes, 35 — Rio Grande do Sul — BRASIL

## PESQUISAS

PUBLICAÇÕES DE PERMUTA INTERNACIONAL

### Conselho de Redação

Pedro Ignacio Schmitz, S. J. — Diretor

Aloysio Sehnem, S. J. — Coordenador de Botânica

José Hauser, S. J. — Coordenador de Zoologia

Arthur Rabuske, S. J. — Coordenador de História

— — — —

**PESQUISAS** publica trabalhos de investigação científica e documentos inéditos em todas as línguas de uso corrente na ciência.

Os autores são os únicos responsáveis pelas opiniões emitidas nos artigos assinados.

A publicação das colaborações espontâneas depende do Conselho de Redação.

Pesquisas aparece em 4 secções independentes: **Antropologia, História, Zoologia, Botânica.**

**Pedimos permuta com as revistas do ramo.**

— — — —

**PESQUISAS** veröffentlicht wissenschaftliche Originalbeiträge in allen geläufigen westlichen Sprachen.

Die Aufnahme nicht eingeforderter Beiträge behält sich die Schriftleitung vor.

Verantwortlich für gezeichnete Aufsätze ist der Verfasser.

Pesquisas erscheint bis auf weiteres in 4 unabhängigen Reihen: **Anthropologie, Geschichte, Zoologie, Botanik.**

**Wir bitten um Austausch mit den entsprechenden Veröffentlichungen.**

— — — —

**PESQUISAS** publishes original scientific contribution in any current western language

The author is responsible for his undersigned article.

Publication of contributions not specially requested depends upon the redactorial staff.

Pesquisas is divided into four independent series: **Anthropology, History, Zoology, Botany.**

**We ask for exchange with publications of similar character.**

— — — —

Registro n.º 634 — P. 209/73 da Divisão de Censura de Diversões Públicas do D.P.F.

# PESQUISAS

---

ZOOLOGIA, nº 32

Ano de 1979

---

ISSN 0373 - 8418

Guido Rummler

## EFEITO DE DEFICIÊNCIA OLFATÓRIA EXPERIMENTAL SOBRE A GLICEMIA DE **CHRYSEMYS DORBIGNI** (CHELONIA)

---

INSTITUTO ANCHIETANO DE PESQUISAS

São Leopoldo - Praça Tiradentes, 35 - Rio Grande do Sul - Brasil

---

# **EFEITO DE DEFICIÊNCIA OLFATÓRIA EXPERIMENTAL SOBRE A GLICEMIA**

Guido Rummler

## **SUMÁRIO**

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>MATERIAIS e MÉTODOS</b> .....	<b>17</b>
1. Animais estudados .....	17
2. Grupos experimentais .....	17
2.1. Tartarugas bulbectomizadas ou com nervos olfatórios seccionados (alimentadas) .....	17
2.2. Tartarugas com nervos olfatórios seccionados, em jejum e realimentadas .....	18
2.3. Teste de sensibilidade à insulina .....	18
3. Técnicas cirúrgicas .....	19
3.1. Ablação dos bulbos olfatórios .....	19
3.2. Seccionamento dos nervos olfatórios .....	20
4. Coleta de amostras de sangue .....	21
5. Determinação da glicemia .....	21
6. Medidas de peso corporal, órgãos e urina .....	22
7. Exame macro e microscópico (constatação das lesões) .....	23
8. Análise estatística .....	23
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>25</b>
1. Efeitos da ablação dos bulbos olfatórios e do seccionamento dos nervos olfatórios em tartarugas alimentadas .....	25
1.1. Glicemia .....	25
1.2. Peso corporal .....	25
1.3. Peso de órgãos e do conteúdo da bexiga .....	28
1.4. Estruturas cicatriciais .....	28
2. Efeitos do seccionamento dos nervos olfatórios durante jejum e realimentação: glicemia .....	33

3. Teste de sensibilidade à insulina em <i>Chrysemys dorsalis</i> , fêmeas, adultas, com nervos olfatórios seccionados . . . . .	33
DISCUSSÃO . . . . .	40
CONCLUSÕES . . . . .	49
RESUMO . . . . .	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS . . . . .	53
APÊNDICE . . . . .	59

Guilherme R. S. et al.

## SUMÁRIO

9	INTRODUÇÃO
17	MATERIAL E MÉTODOS
17	1. Animais estudados
17	2. Grupos experimentais
17	2.1. Tartarugas bulbocorticadas ou com nervos olfatórios seccionados (alimentadas)
17	2.2. Tartarugas com nervos olfatórios seccionados em jejum e realimentadas
18	2.3. Teste de sensibilidade à insulina
18	3. Técnicas cirúrgicas
19	3.1. Anestesia dos bulbos olfatórios
20	3.2. Secionamento dos nervos olfatórios
21	4. Coleta de amostras de sangue
21	5. Determinação da glicemia
22	6. Medidas de peso corporal, órgãos e urina
23	7. Exame macro e microscópico (constatação das lesões)
23	8. Análises estatísticas
25	RESULTADOS
25	1. Efeitos da anestesia dos bulbos olfatórios e do secionamento dos nervos olfatórios em tartarugas alimentadas
25	1.1. Glicemia
25	1.2. Peso corporal
26	1.3. Peso de órgãos e do conteúdo da bexiga
26	1.4. Estruturas citológicas
26	2. Efeitos do secionamento dos nervos olfatórios durante jejum e realimentação: glicemia

## LISTA DAS FIGURAS E TABELAS

<b>Figura 1</b>	Aparelho estereotáxico para tartaruga .....	20
<b>Figura 2</b>	Crânio de <i>Chrysemys dorsbigni</i> .....	21
<b>Figura 3</b>	Variação da glicemia e peso corporal de <i>Chrysemys dorsbigni</i> machos, adultos, após ablação dos bulbos olfatórios e seccionamento dos nervos olfatórios .....	27
<b>Figura 4</b>	Encéfalo, sistema olfatório e estruturas cicatriciais em <i>Chrysemys dorsbigni</i> .....	31
<b>Figura 5</b>	Cortes histológicos do tecido cicatricial na área do seccionamento dos nervos olfatórios próxima ao saco olfatório .....	32
<b>Figura 6</b>	Variações dos níveis glicêmicos de <i>Chrysemys dorsbigni</i> fêmeas, adultas, subseqüentes ao seccionamento dos nervos olfatórios, durante jejum e após realimentação .....	35
<b>Figura 7</b>	Variações glicêmicas após administração endovenosa de insulina e solução de NaCl, 4 meses depois do seccionamento dos nervos olfatórios de <i>Chrysemys dorsbigni</i> fêmeas adultas .....	38
<b>Tabela I</b>	Níveis glicêmicos de <i>Chrysemys dorsbigni</i> , machos, adultos, 4, 6 e 8 meses após seccionamento dos nervos olfatórios ou ablação dos bulbos olfatórios .....	26

**Tabela II**

Pesso corporais de *Chrysemys dorsbigni*, machos, adultos, ao início do experimento e 4, 6 e 8 meses após lesões . . . 29

**Tabela III**

Pesos correspondentes à *Chrysemys dorsbigni*, machos, adultos, bulbectomizados 8 meses antes e ao respectivo grupo testemunha . . . . . 30

**Tabela IV**

Níveis glicêmicos de *Chrysemys dorsbigni*, fêmeas, adultas, iniciais, subseqüentes ao seccionamento dos nervos olfatórios com jejum (até 23º dia), e após realimentação (até 4º mês) . . . . . 34

**Tabela V**

Valores glicêmicos após injeção endovenosa de insulina 4 meses após o seccionamento dos nervos olfatórios de *Chrysemys dorsbigni*, fêmeas, adultas. . . . . 37

**Tabela VI**

Valores glicêmicos após injeção endovenosa de solução de NaCl 0,9% de *Chrysemys dorsbigni*, fêmeas, adultas . . . . 39

**EM APÊNDICE:****Tabela A.I**

Pesos do fígado de *Chrysemys dorsbigni*, machos, adultos, bulbectomizados 8 meses antes . . . . . 59

**Tabela A.II**

Peso do pâncreas de *Chrysemys dorsbigni* machos, adultos, bulbectomizados 8 meses antes . . . . . 60

**Tabela A.III**

Pesos correspondentes à *Chrysemys dorsbigni*, fêmeas, adultas, com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes e de tartarugas testemunhas . . . . . 61

**Tabela A.IV**

Pesos do fígado de *Chrysemys dorsbigni*, fêmeas, adultas, com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes e de tartarugas testemunhas. . . . . 62

**Tabela A.V**

Pesos da tireóide de tartarugas fêmeas, adultas, com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes, e de tartarugas testemunhas ..... 63

**Tabela A.VI**

Pesos das adrenais de *Chrysemys dorsibigni*, fêmeas, adultas, com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes, e de tartarugas testemunhas ..... 64

**Tabela A.VII**

Pesos do pâncreas de *Chrysemys dorsibigni*, fêmeas, adultas, com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes, e de tartarugas testemunhas ..... 65

**Tabela A.VIII**

Pesos de hipófises em *Chrysemys dorsibigni*, fêmeas, adultas, com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes, e de tartarugas testemunha ..... 66



## Introdução

Uma idéia geralmente aceita é a de que a atividade sensorial química predomina sobre os demais sentidos em vertebrados aquáticos. Entretanto, segundo McLeod (1971), mesmo em mamíferos inferiores como o gambá e o porco espinho, que são de vida terrestre, o cérebro olfatório (sistema límbico) ocupa aproximadamente um terço da área cortical. Dentre os sentidos químicos, a olfação parece ter significativa importância na atividade da maioria das espécies de vertebrados de vida aquática, aquática-terrestre, ou terrestre. Levando em conta a proporção do volume ocupado pelas diferentes partes do sistema nervoso relacionadas com este sentido e, em função da maior, mediana ou nenhuma importância da olfação, as espécies podem ser classificadas, respectivamente, em macrosmáticas, microsmáticas e anosmáticas. O homem é considerado como microsmático.

O golfinho, animal anosmático, isto é, sem olfação, apresenta também um sistema límbico cuja diferença importante parece estar no fato de que não apresenta circunvolução denteada (MacLean, 1949). Estudos têm demonstrado que o sistema límbico, além da percepção olfatória está implicado na regulação de funções somáticas, autônomas e de comportamento emocional, alimentar e sexual.

Em mamíferos superiores como o próprio homem, a porção olfatória ocupa uma percentagem bem menor do cérebro, devendo-se entretanto considerar que, conforme MacLeod (1971), o que realmente ocorreu foi um desenvolvimento explosivo do restante de telencéfalo com menor desenvolvimento da área olfatória.

Segundo Olson (1971), mesmo nos mais primitivos dentre os vertebrados conhecidos, as cinco divisões do encéfalo (telencéfalo, diencefalo, mesencefalo, metencefalo e mielencefalo) estão parcialmente desenvolvidas e parece que cada uma delas estava inicialmente relacionada com a percepção sensorial correspondente à olfação, audição e visão. A parte mais anterior do cérebro, o telencéfalo, apresentou modificações evolutivas mais acentuadas que a das outras subdivisões. Em formas muito primitivas como nas lampreias, o telencéfalo consiste de protuberâncias anterior e posterior, ambas relacionadas com a olfação. O lobo olfatório persistiu no curso da evolução, mas o restante do lobo cerebral

sofreu alterações. Ao nível dos répteis iniciaram-se importantes transformações, ocorrendo em alguns o desenvolvimento de um neopálio adicionado ao arquipálio e paleopálio presentes nos anfíbios e vertebrados menos evoluídos. O neopálio tornou-se bem desenvolvido em mamíferos, alcançando sua maior expressão no homem. Entretanto, no curso da evolução porções do telencéfalo assumiram funções distintas da olfação. Mas, Pool (1954) concluiu que o sistema límbico tem essencialmente a mesma estrutura geral, propriedades e funções, nos animais e no homem. Esta constância estrutural através do desenvolvimento filogenético levou Broca (1878) a considerá-lo um denominador comum do cérebro de todos os mamíferos.

Considerando o aspecto relativo ao habitat, é interessante apontar que, segundo Romer (1971), os répteis representam o degrau final na conquista da terra, pois desenvolveram um tipo de ovo (amniótico) que é posto em terra, não havendo forma larval intermediária, como o girino dos anfíbios, de vida aquática. Considera-se que, com a conquista do meio terrestre, ocorreu também maior desenvolvimento da acuidade visual, acontecendo que, em aves necrófagas, a visão e a olfação parecem desempenhar papel igualmente importante na obtenção do alimento. Também é interessante considerar que os répteis são oriundos dos anfíbios labirintodontes e que aves e mamíferos são, por sua vez, oriundos dos répteis. O nariz dos répteis, segundo Adams (1938), está num estágio mais avançado que o dos anfíbios, tendo partes adicionais e sendo melhor adaptado à vida terrestre. Mas, dentre os répteis, as tartarugas, como é o caso da *Chrysemys dorsibigni* que aqui será estudada, detectam alimento tanto em ambiente aquático (peixes) como em ambiente terrestre (ervas), possuindo, paralelamente a um sistema visual bem desenvolvido, também bulbos e nervos olfatórios anatomicamente proeminentes.

A deficiência olfatória parece ter múltiplas implicações em animais micro e macrosmáticos sendo estas não só de ordem comportamental mas também orgânica funcional. No homem, Giammanco et al. (1968) referem uma descrição, feita por Kallmann em 1943, de um síndrome, posteriormente chamado de displasia olfator-genital, que se caracteriza por anosmia com displasia do bulbo olfatório, hipotrofia testicular e ginecomastia. O estudo experimental destas implicações tem sido feito principalmente em mamíferos de laboratório e com aplicações de técnicas variadas. Estas técnicas permitem atuar ao nível dos receptores ou ao nível das estruturas nervosas centrais como, por exemplo, os bulbos olfatórios. Num artigo de revisão, Alberts (1974) relaciona os procedimentos para produzir deficiência olfatória, até então utilizados por diferentes

pesquisadores, compreendendo estes a aplicação de anestésico à mucosa nasal, raspagem cirúrgica do epitélio olfatório, oclusão nasal com traqueotomia, necrose do epitélio olfatório por irrigação com sulfato de zinco, destruição dos nervos olfatórios, bulbectomia uni ou bilateral ou ainda combinações entre estes.

Entretanto, há discrepâncias quanto aos resultados obtidos por diferentes investigadores acerca de determinadas variáveis. Estas discordâncias parecem ser atribuíveis, também segundo Alberts, às diferenças entre técnicas empregadas. Assim por exemplo, a ablação dos bulbos olfatórios pode conduzir a efeitos mais acentuados que os resultantes da necrose do epitélio olfatório. Neste caso, é necessário considerar que os bulbos olfatórios, como integrantes do sistema límbico, exercem também funções não sensoriais específicas. Os efeitos de deficiências olfatórias, diferentemente induzidas, compreendem aspectos resumidos por Alberts (1974) que são relacionadas com comportamentos típicos da espécie, comportamentos gerais, de alimentação, de aprendizagem, bem como medidas de variáveis neurológicas e hormonais.

A variável principal estudada neste trabalho é a glicemia. Sabe-se que esta variável apresenta em répteis valores que divergem de espécie para espécie. Os níveis glicêmicos registrados em diversas espécies de répteis são listados por Penhos (1973). Alguns répteis apresentam variações estacionais da glicemia (Gilles-Baillien, 1974). As dosagens do glicogênio hepático apontam valores elevados para os répteis (Dessauer, 1953; Coulson & Hernandez, 1964; Marques, 1967; Machado, 1977). O jejum em algumas espécies de répteis não altera grandemente a glicemia (Miller, 1961) enquanto que em *Chrysemys dorsibigni* fêmeas um jejum de 14 dias reduz a glicemia (Machado, 1977). O glicogênio hepático apresenta-se em níveis menores com a tartaruga em jejum há 90 dias (Machado, 1977). A ablação do pâncreas de tartarugas causa acentuada elevação dos níveis glicêmicos assim como a glicosúria (Aldehoff, 1891). Em espécimes hipofisectomizadas de *Chrysemys dorsibigni* e *Phrynosoma hilarii* o acréscimo dos níveis glicêmicos após pancreatectomia é menos intenso (Foglia et al., 1955). A hiperglicemia é transitória em *Phrynosoma hilarii* se a pancreatectomia não for total (Marques, 1955). Até uma semana após a excisão do pâncreas ocorre hiperglicemia em lagartos (Penhos e col., 1965) e em serpentes (Houssay & Penhos, 1960), sendo que este animal, segundo Cardeza (1961) e Gabe (1970) possui maior percentagem de células alfa. Na ausência de pâncreas, o jacaré *Alligator mississippiensis* pode sobreviver por cerca de 15 semanas (Penhos et al., 1967). A administração de insulina bovina provoca redução da glicemia em répteis (Penhos, 1973). O glucagon parece ter grande efeito quando

administrado em répteis conforme registros de Marques (1967 e 1970); Miller & Wurster (1958); Penhos (1973); Houssay & Penhos (1960); Lima Verde et al. (1974); Stevenson et al. (1957); Penhos et al. (1967) e Machado (1977). A adrenalina também induz acentuada hiperglicemia em répteis (Prado, 1947; Lima Verde et al., 1974; Coulson & Hernandez, 1953; Stevenson et al., 1957; Miller & Wurster, 1958; Lopes et al., 1954; Mundt et al., 1969) assim como na tartaruga *Chrysemys dorbigni* (Machado, 1977).

Sabe-se que a glicemia é regulada por fatores hormonais como a insulina, glucagon, hormônios hipofisários e tireóideos, esteróides, derivados fenólicos da medula adrenal e, também, pelo sistema nervoso central e periférico.

No trabalho que realizamos foi estudada a variação glicêmica após a ablação dos bulbos olfatórios e a secção dos nervos olfatórios. Perassi et al. (1975) já haviam registrado, em ratos, diminuição da glicemia após ablação dos bulbos olfatórios. Também há referências acerca de alterações em glândulas implicadas na regulação da glicemia, decorrentes da ablação dos bulbos olfatórios.

As avaliações relativas à tireóide parecem indicar que após a bulbectomia, em ratos, se estabelece certo grau de hipofuncionamento desta glândula. Giammanco et al. (1968) e Tessitore et al. (1968) verificaram uma diminuição no peso e volume da tireóide de animais bulbectomizados. Observações em células tireotróficas realizadas por Balboni e col. em 1965 e 1967, bem como registros químicos apresentados por Eichelman et al. (1972) também refletem aspectos de hipotireoidismo decorrentes da bulbectomia. Belló (1975) verificou que lesões eletrolíticas efetuadas em bulbos olfatórios de ratos provocam menor captação de  $I^{131}$  pela tireóide assim como redução dos níveis de iodo ligado às proteínas (PBI<sup>127</sup>).

Possibilidades quanto à existência de alguma interrelação entre bulbos olfatórios e adrenais ficaram evidenciadas desde que Kling (1964) registrou menor peso destas glândulas em ratos que tinham sido bulbectomizados em fase pré-púbere. Mas, Giammanco et al. (1968) não observaram diferenças no volume destas glândulas mesmo em ratos bulbectomizados na fase pré-púbere. Diminuições nos níveis de corticosterona plasmática após a ablação dos bulbos de ratos foram registradas por Loyber et al. (1973-74). Lecuona et al. (1972) verificaram um aumento de corticosterona dos ratos que tiveram seus bulbos olfatórios estimulados eletroliticamente. Entretanto, houve aumento da corticosterona plasmática quando a sua avaliação foi realizada em períodos pós-bulbectomia menores (Eichelman et al., 1972), e houve o desaparecimento da diferença entre níveis matutinos e vespertinos em ratos bulbectomizados (Montilla et

al., 1977). Também se registrou diminuição na eliminação de 1-7 hidroxisteróides em ratos bulbectomizados (Loyber et al., 1971), e um aumento na depleção de ácido ascórbico das adrenais após estimulação dos bulbos olfatórios de ratos (Palma et al., 1971).

Em animais fêmeas, evidências de relações bulbo-gonadais são manifestadas por diminuição no peso da genitália após bulbectomia conforme registros de Whitten (1956), Kling (1964), Giammanco et al. (1968) e Balboni (1967), bem como alterações histológicas nas gônadas de coelhas bulbectomizadas (Franck, 1966). Evidências também histológicas foram observadas por Tessitore et al. (1968) refletidas pela diminuição de folículos e pelo aumento de corpos lúteos em útero hipotrofiado de ratas bulbectomizadas. Estas alterações gonadais parecem estar relacionadas com alterações da atividade hipofisária já que Balboni et al. (1967) observaram em ratas bulbectomizadas células gonadotróficas de aspecto semelhante a células de castração. Tessitore et al. (1968) observaram também diminuição da neurosecreção na hipófise de ratos, mas não observaram alterações na adenohipófise. Entretanto a bulbectomia parece não promover alterações gonadais em ratos machos, visto que Whitten (1956), Giammanco et al. (1968), Tessitore et al. (1968) não registraram diferença no seu peso. Já Kling (1964) registrou menor peso nos testículos de ratos bulbectomizados, embora estes apresentassem espermatogênese ativa.

Sabe-se que a hipofisectomia causa redução da glicemia em tartarugas da espécie *Chrysemys dorsibigni* (Wagner, 1956), mas não se tem referência quanto a mecanismos nervosos de controle da glicemia em tartarugas.

Em mamíferos são menos desconhecidas as relações entre sistema nervoso e níveis glicêmicos. A interferência do sistema nervoso sobre o metabolismo foi ao que parece pela primeira vez detectada por Claude Bernard quando registrou glicosúria e hiperglicemia após a punção do assoalho do quarto ventrículo. De outra forma, segundo Willians (1974), sendo a glicose a fonte primaz de energia do cérebro, pode-se pensar que um sistema nervoso autônomo seja necessário para rápida análise dos níveis circulantes deste nutriente e transmissão de sinais à periferia para mobilização de hormônios e substratos apropriados. Embora não estabelecido no homem, há evidências em espécies inferiores a favor da inclusão do sistema límbico e hipotálamo como "cérebro visceral" o qual regula respostas neurais autônomas. Os mecanismos pelos quais o cérebro monitoriza o fluxo de combustíveis envolve fibras nervosas simpáticas ramificando-se em paredes vasculares, em volta de células parenquimais do tecido adiposo, músculo, fígado, ilhotas pancreáticas e medula adrenal, envolve ainda inervação parassim-

pática do pâncreas bem como um sistema portal servindo como conduto para transporte de peptídeos específicos, fatores inibidores e liberadores, que modulam a secreção de hormônios hipofisários. Segundo Vignoli (1938), as vias nervosas periféricas simpáticas são consideradas hiperglicemiantes, adrenalino-secretoras e o vago como hipoglicemiante, insulino-secretor. Quanto à "picada diabética" de Claude Bernard, nas proximidades do calamus scriptorius, esta atingiria um trecho das vias vegetativas ligadas a centros hipotalâmicos glico-reguladores (Vignoli, 1938). Covian et al. (1959) verificaram que a hemidecorticação, que inclui estruturas límbicas corticais, provoca alteração no peso de diversas glândulas endócrinas que estão implicadas na regulação glicêmica. Evidências de relação entre hipotálamo e metabolismo de carboidratos foram verificadas por Bulatao & Cannon, em 1925, que ao estimular o hipotálamo registraram hiperglicemia. Ingram & Barris (1936) constataram aumento da sensibilidade à insulina em gatos com lesões hipotalâmicas. Barkai & Allweis (1972) registraram hiperglicemia em ratos após estimulação do núcleo ventromedial. Steffens et al. (1972) demonstraram que, independentemente de oferta alimentar, o hipotálamo lateral e ventromedial são, respectivamente, áreas hiper e hipoglicemiantes.

Em macacos, a estimulação de todos os componentes do sistema límbico provoca hiperglicemia, o mesmo sucedendo no gato, com exceção da parte anterior da circunvolução do cíngulo, cuja estimulação determina **hipoglicemia** (Anand & Dua, 1956), e, segundo Kaada (1951), não há víscera com inervação autônoma que não seja influenciada por estimulação límbica.

Como os bulbos olfatórios são componentes límbicos e implicados na manutenção dos níveis glicêmicos é pertinente fazer-se uma descrição das conexões centrais dos bulbos olfatórios em répteis. Assim, conforme Beccari (1943), as vias olfatórias dos répteis são classificadas em primárias, secundárias e terciárias.

As vias primárias, constituídas pelos nervos olfatórios, vão da mucosa olfatória ao bulbo olfatório.

As vias olfatórias secundárias são constituídas pela raiz lateral e raiz medial. A raiz lateral, a maior, expande-se à região piriforme e suas fibras terminam no paleocórtex (feixe bulbo-cortical), no núcleo olfatório lateral (feixe bulbo-estriado) e fibras que terminam na eminência estrioseptal. A raiz medial se distribui ao núcleo olfatório anterior, faixa denteada e área precomissural do septo.

As fibras terciárias são constituídas por vias intrínsecas e extrínsecas. As extrínsecas associam o manto e região do septo com o diencéfalo. Entre as intrínsecas, o feixe córtico-estriado é consti-

tuído por fibras que vão do paleocórtex à porção posterior do arquiestriado e parece que se associam também às fibras que chegam diretamente do bulbo olfatório. As conexões olfatórias terciárias extrínsecas são essencialmente representadas pelo fórnice primitivo, pela estria medular e pela estria terminal.

O fórnice primitivo é constituído por contingentes de fibras dentre os quais um primeiro grupo vai à região pré-óptica, um segundo à região mamilar, e um terceiro, o mais dorsal, à região habenular (epitálamo).

A estria medular é constituída nos répteis pela confluência da raiz córtico-habenular, de uma raiz hipotalâmica e de raízes olfato-habenulares lateral e medial. A raiz hipotalâmica compõe-se de fibras provenientes da região pré-óptica e infundibular, e a raiz olfatória lateral recolhe fibras que vêm do paleocórtex, do núcleo olfatório lateral e do complexo amigdalóideo, e algumas destas fibras, especialmente as do complexo amigdalóideo, cruzam na comissura da habênula terminando em parte do lado oposto, constituindo nos répteis e vertebrados inferiores uma comissura telencefálica superior. A raiz olfato-habenular medial origina-se na região do septo e talvez parcialmente no arquicórtex.

A estria terminal é composta por pequenos feixes. Suas fibras originam-se no complexo amigdalóideo e constituem um feixe que se dirige transversalmente para trás distribuindo-se em dois grupos. Um grupo (parte comissural), o mais numeroso, cruza a linha mediana e alcança o complexo amigdalóideo do lado oposto, constituindo a chamada comissura anterior. O segundo grupo (parte hipotalâmica) chega perto da superfície ventricular virando ventralmente na região pré-óptica e caudalmente na região infundibular.

Portanto, esta descrição de Beccari deixa entrever a possibilidade das múltiplas repercussões que pode ter um estímulo olfatório ou mesmo, a ausência desta via de informações. Mas também, por considerações já feitas, é necessário levar em conta se os efeitos da retirada dos bulbos olfatórios podem ser atribuíveis à ausência de atividades não sensoriais desta porção do sistema nervoso.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi estudar a participação dos bulbos olfatórios na regulação da glicemia, e, aproveitando as particularidades anatômicas dos nervos olfatórios de *Chrysemys dorbigni*, procurar investigar se a desafferentação olfatória (vias primárias) conduziria ao mesmo efeito que a ablação completa dos bulbos olfatórios e, havendo alteração, determinar, se possível, a sua causa.



## Materiais e Métodos

### 1. Animais estudados

Utilizaram-se tartarugas *Chrysemys dorbigni* (Chelonia), adultas, de ambos os sexos, com peso corporal entre 0,480 e 2,300 kg.

As tartarugas provinham do estuário do rio Guaíba e eram mantidas no Biotério do Instituto de Biociências da UFRGS num tanque especial com água corrente, ao ar livre. Este tanque possuía, também, uma área central seca, contendo terra. O alimento ofertado às tartarugas consistia de peixes, geralmente com escamas, também, oriundos do estuário do rio Guaíba.

Os animais eram empregados nos experimentos após um período de adaptação, a estas condições ambientais, de aproximadamente um mês.

### 2. Grupos experimentais

O presente trabalho compreende três séries de experimentos, nos quais se avaliaram os níveis glicêmicos de tartarugas controle, bulbectomizadas, ou com nervos olfatórios seccionados (desaferentadas). Estas três séries de experimentos

se realizaram com tartarugas nas seguintes e respectivas condições: alimentadas; em jejum e realimentadas; e submetidas a teste de sensibilidade à insulina.

#### 2.1. Tartarugas bulbectomizadas ou com nervos olfatórios seccionados (alimentadas).

Nesta série de experimentos foram utilizadas tartarugas adultas, machos, com peso corporal entre 0,480 e 1,100 kg. Distribuíram-se os animais em três grupos, de modo que as médias relativas ao peso corporal fossem similares entre eles. Vinte e quatro tartarugas do 1º grupo foram submetidas ao seccionamento dos nervos olfatórios (n.o.), por via transnasal. Outras 20 tartarugas, pertencentes ao 2º grupo, sofreram a remoção cirúrgica dos bulbos olfatórios (b.o.). O 3º grupo, com 25 tartarugas pseudo-lesadas (7 pseudo-bulbectomizadas e 18 pseudo-desaferentadas) constituiu o grupo controle ou testemunha. Para avaliações do grupo testemunha, os animais eram escolhidos aleatoriamente entre os pseudo-bulbectomizados e pseudo-desaferentados, pois verificou-se preliminarmente

não haver diferença glicêmica significativa entre eles. As tartarugas deste grupo eram mantidas nas mesmas condições ambientais e utilizadas na mesma ocasião das demais. Todos os animais permaneciam no tanque, ao ar livre, e eram alimentados com peixes "ad libitum".

Decorridos 4, 6 e 8 meses do tratamento cirúrgico, eram escolhidos aleatoriamente animais de cada grupo e deles retiradas amostras de sangue para a determinação da glicemia. Na mesma ocasião, avaliava-se o peso corporal. O número destas avaliações encontra-se especificado nas tabelas.

Ao final de 8 meses, tartarugas de todos os grupos foram sacrificadas, retirando-se diversos órgãos para medida do peso seco e comprovação das lesões.

As condições ambientais variaram no decorrer de 8 meses. Desta forma, as determinações da glicemia aos 4 e 8 meses (maio e setembro, respectivamente) foram efetuadas em temperatura média ambiente de 24°C. A avaliação da glicemia aos 6 meses (julho) foi realizada em temperatura média ambiente de aproximadamente 18°C.

## 2.2. Tartarugas com nervos olfatórios seccionados, em jejum e realimentadas.

Nove tartarugas, adultas, fêmeas, com peso corporal médio de 1,750 kg, foram submetidas ao seccionamento dos nervos

olfatórios. Outros sete animais, pseudo-desafereentados, do mesmo sexo, e com peso corporal médio de 1,990 kg, constituiu o grupo testemunha ou controle.

Inicialmente, eram colhidas amostras de sangue de animais que haviam permanecido 24 horas sem alimento, para a determinação da glicemia basal ou inicial. Imediatamente após, as tartarugas do 1º grupo sofriam a secção dos nervos olfatórios enquanto as do 2º grupo eram apenas pseudo-lesadas. Ambos os grupos eram mantidos em jejum de alimento sólido durante 23 dias, e a partir desse período passaram a receber peixes "ad libitum".

Amostras de sangue foram retiradas no 1º, 7º e 23º (último) dia de jejum e depois de 112 dias do início da realimentação.

Depois de 4 meses da secção dos nervos olfatórios, os animais foram sacrificados para avaliação do peso úmido e seco de órgãos como fígado, pâncreas, adrenais, tireóide e hipófise. As mesmas avaliações foram realizadas nos animais testemunhas.

Este experimento foi iniciado no mês de outubro e concluído no final de janeiro.

## 2.3. Teste de sensibilidade à insulina

Testes de sensibilidade à insulina foram realizados simultaneamente em 6 tartarugas fêmeas depois de 4 meses do

seccionamento dos nervos olfatórios e em 6 animais testemunhas (pseudo-desafereentados). A insulina (Lilly, regular), diluída em solução de NaCl 0,9%, era injetada na dose de 1 U/kg de peso corporal por via endovenosa (jugular externa). O volume injetado era de 1 ml/kg. Os mesmos animais receberam, pela mesma via, igual volume de solução salina (NaCl 0,9%), após um intervalo de uma semana. Para evitar qualquer interferência da repetição do teste, metade dos animais de cada grupo (sem n.o. e testemunha) recebeu, primeiro, a injeção de insulina e, após uma semana, a injeção de solução salina. Com a outra metade, o procedimento foi o inverso, isto é, primeiro foi injetada a solução salina e, após, a insulina.

Amostras de sangue eram inicialmente retiradas das tartarugas de ambos os grupos (jejum de 24 horas). Imediatamente após, era injetada a insulina ou a solução de NaCl, e novas amostras eram coletadas depois de decorridas 1 h, 2h30min, 4h30min, 8h, 12h, 28h e 48h. Este teste foi realizado no mês de janeiro.

### 3. Técnicas cirúrgicas

#### 3.1. Ablação dos bulbos olfatórios

Para a ablação dos bulbos olfatórios, os animais eram colocados no sistema de contenção do aparelho esterotáxico (Fig. 1), especialmente construído para tartaruga (Rummler & Bel-

lô). Inicialmente, com um bisturi, removia-se a pele da região situada e aderida à abóbada craniana e recortava-se uma porção do osso frontal, com auxílio de uma broca dental. Este recorte era limitado, anteriormente, pelos ossos pré-frontais e, posteriormente, pelo osso parietal. Uma vez removida essa parte do osso frontal, obtinha-se uma janela no crânio, situada sobre os bulbos olfatórios. Cortavam-se, então, as meninges mediana e longitudinalmente e ligava-se o vaso sanguíneo que as percorre dorso-medialmente, para evitar hemorragia. Cortes transversais ao primeiro, em cada uma de suas duas extremidades, permitiam o afastamento das meninges, ficando os bulbos expostos. Para sua remoção, realizava-se um corte ao nível do sulco que os delimita posteriormente e outro corte anterior, separando assim os bulbos, respectivamente, dos hemisférios cerebrais e dos nervos olfatórios.

Após a retirada dos bulbos olfatórios, recolocava-se a calota óssea recortada do crânio, na qual haviam sido previamente fixados dois parafusos. Dois outros parafusos haviam sido, também, previamente colocados no crânio, próximos às extremidades anterior e posterior da janela. Estes quatro parafusos tinham a finalidade de impedir o descolamento da resina acrílica que era vertida sobre esta parte do crânio, a qual, depois de polimerizada, endure-

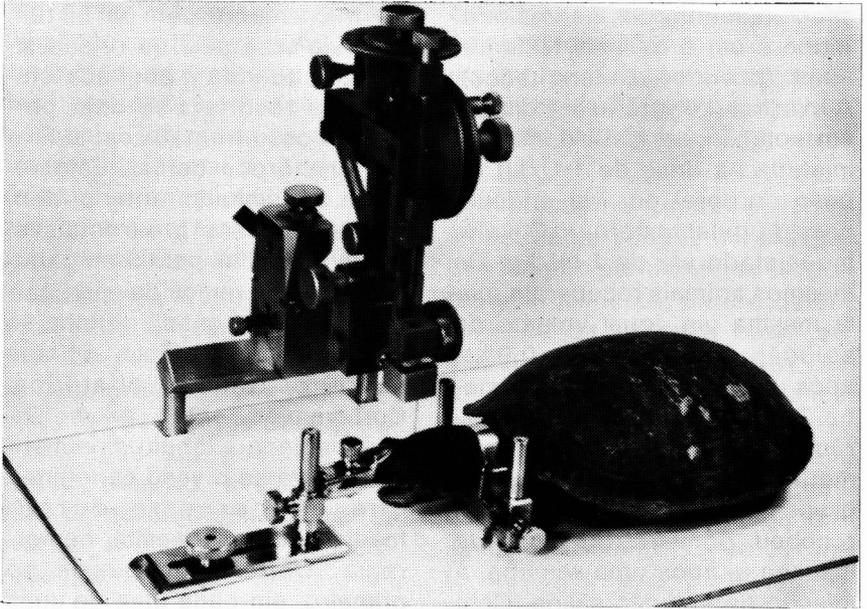


Figura 1: Aparelho estereotático para tartaruga.

A foto mostra um espécime de *Chrysemys dorsibigni* macho no sistema de contenção do aparelho.

cia, fechava completamente a incisão e fixava a calota, facilitando a cicatrização óssea.

Procedimento semelhante ao acima descrito, excetuando o corte e a retirada dos bulbos olfatórios, foi realizado nas tartarugas consideradas pseudo-bulbectomizadas.

### 3.2. Seccionamento dos nervos olfatórios

As fibras dos nervos olfatórios na tartaruga *Chrysemys dorsibigni* unem-se num único eixo nervoso nas proximidades da abertura anterior do foramen (Fig. 2), que é impar. Devido a essas características, foi possível

desenvolver uma técnica para o seccionamento dos nervos olfatórios que dispensa trepanação do crânio, sendo de fácil e rápida execução.

Após fixar a cabeça da tartaruga no sistema de contenção do aparelho estereotático, introduzia-se, através de um dos orifícios nasais, uma broca dental que, sendo deslocada em sentido caudal, atingia a abertura rostral do foramen (Fig. 2). Utilizando-se uma broca de diâmetro um pouco maior do que o do foramen, e pressionando-a (em rotação) contra a abertura do etmóide, conseguia-se seccionar todas as fibras que o

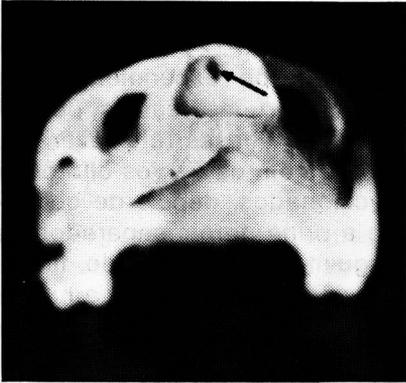


Figura 2: Crânio de **Chrysemys dorbigni**. A seta aponta o foramen olfatório.

atravessam. Além da facilidade de execução, esta técnica oferece a vantagem de reduzir o stress resultante de uma trepanação do crânio. A operação simulada (pseudo-desafertação) consistia na simples introdução da broca através de um dos orifícios nasais.

#### 4. Coleta de amostras de sangue

Para coleta de amostras de sangue, as tartarugas eram previamente imobilizadas em decúbito dorsal sobre uma caixa apropriada, de modo a permitir que o pescoço do animal, projetado para frente, permanecesse imóvel. Fazia-se, então, uma incisão longitudinal e lateral na pele que reveste o pescoço, mantendo-a afastada dos tecidos adjacentes por uma pinça. Após expor um segmento da jugular externa, nela se realizava uma pequena incisão. O sangue que fluía era embolsado no espaço entre a pele e tecidos

adjacentes e imediatamente transferido para um tubo de centrífuga, heparinizado. A veia era então ligada.

A quantidade de sangue coletado em cada amostra era de 1 ml aproximadamente, sendo utilizada para a determinação da glicemia.

#### 5. Determinação da glicemia

Os níveis sanguíneos de glicose foram avaliados pelo método de King-Garner (1957), conforme o seguinte procedimento: num tubo para centrifugação, no qual eram previamente pipetados 1,8 ml de solução isotônica (sulfato de Na + Sulfato de Cu + +), adicionavam-se 0,1 ml de sangue e 0,1 ml de tungstato de sódio (10%), agitando bem. Posteriormente, os tubos eram levados ao centrifugador e submetidos a 2.000 r.p.m. durante 10 minutos. Um ml do sobrenadante era transferido para um tubo de Follin-Wu, sendo o mes-

mo feito com o sobrenadante dos tubos contendo água (branco) e os padrões de glicose, diluídos em ácido benzóico (20, 30 e 50 mg/ml). Adicionava-se 1 ml de reagente cúprico e levavam-se os tubos ao banho-maria, com água fervente, por 10 min. Após resfriamento dos tubos à temperatura ambiente, acrescentavam-se 3 ml de reagente arseno-molibdico. O conteúdo final era então transferido a um tubo de fotocolorímetro Spetronic 20, sendo feita a leitura da absorbância com filtro de 540 mu.

Todas as determinações foram feitas em duplicata. Os resultados estão expressos nas tabelas como mg de glicose 100 ml de sangue.

## 6. Medidas de peso corporal, órgãos e urina

Medidas do peso corporal foram efetuadas ao início, no decorrer e ao término dos experimentos.

Ao final das experiências, as tartarugas eram anestesiadas com pentobarbital sódico (25 mg/kg de peso corporal), através de injeção intraperitoneal. Fazia-se depois um corte longitudinal com serra elétrica em cada uma das porções laterais que unem carapaça e plastrão. Após separar com bisturi os tecidos fixados ao plastrão, este era removido. O conteúdo de urina armazenado pelo animal

era então recolhido para posterior pesagem.

No grupo experimental, em que tartarugas fêmeas permaneciam 4 meses (até fevereiro, verão) com os nervos olfatórios seccionados, depois de coletada a urina, foram separados os seguintes órgãos: fígado, tireóide, pâncreas, adrenais e hipófise, que eram imediatamente enxugados em papel filtro, e pesados. Estes pesos são mostrados nas tabelas como peso úmido.

No grupo experimental em que tartarugas machos permaneceram 8 meses (até outubro, primavera) com os nervos olfatórios seccionados ou com os bulbos olfatórios extirpados, submeteu-se os animais, depois de coletada a urina, a um processo de fixação "in vivo". Esta fixação objetiva permitir que, posteriormente, se pudesse preparar qualquer tecido para estudo histológico. Para esta fixação "in vivo" a tartaruga era colocada em decúbito dorsal e perfundida através do coração (ventrículo) inicialmente com solução de NaCl 0,9% e após com formol (solução de aldeído fórmico a 10%). Incisões nas aurículas permitiam o escoamento do sangue e dos líquidos de perfusão. Depois de perfundir com cerca de 120 ml de cada uma destas soluções, retiravam-se o fígado e o pâncreas.

Em ambos os grupos experimentais, antes da já descrita retirada dos órgãos, a cabeça dos animais era separada e,

com o crânio aberto, mergulhada em formol para posteriores estudos. Ao final, também a carapaça era separada dos tecidos remanescentes, sendo, após, pesada juntamente com o plastrão.

Os órgãos depois de separados permaneciam 3 a 4 dias em frascos com formol, sendo depois lavados em água corrente durante 24 a 36 horas, conforme seu tamanho. Posteriormente eram colocados sobre papel de filtro à temperatura ambiente até apresentarem aspecto seco. Após, eram deixados em estufa com temperatura constante de aproximadamente 50°C, onde permaneciam até que não apresentassem mais variação de peso, então considerado como peso seco.

Os pesos corporais, de urina, da carapaça e plastrão (úmidos) eram medidos em **balança** do tipo comercial. Os pesos de órgãos foram medidos em balança Sartorius com precisão de 0,1 mg.

Nestas comparações utilizaram-se diferentes formas para expressão de peso, tais como, peso úmido, peso seco e pesos relativos (peso do órgão seco ou úmido em relação ao peso corporal incluído ou não o volume de urina e subtraindo ou não o peso da carapaça e plastrão). Para averiguar diferenças quanto a peso de órgãos e urina, foram comparados entre si grupos que apresentavam médias de peso corporal similares.

## 7. Exame macro e microscópico (constatação das lesões)

Os crânios depois de serem mergulhados em formol (item 6) e nele permanecerem por cerca de 1 dia, eram totalmente abertos para a retirada do cérebro. As meninges eram removidas do encéfalo. Este e as estruturas olfatórias remanescentes eram então novamente colocados em formol onde permaneciam para a conservação que possibilitava posterior exame. Eram feitas observações à vista desarmada para verificar a efetividade das lesões.

Quando, ao exame macroscópico, o tecido de cicatrização do local que sofrera extirpação cirúrgica apresentava alguma provável conexão com as estruturas nervosas subjacentes, procedia-se ao exame microscópico, para verificar eventual regeneração das fibras nervosas. Neste caso, o tecido já fixado era lavado em água corrente por 24 horas e submetido a subseqüentes passagens na série alcoólica ascendente, benzol, benzoparafina e, finalmente, incluído em parafina. Os exames microscópicos foram feitos em cortes de 15 a 25 micrômetros, corados com hematoxilina férrica de Heidenhain (Beccari, 1946).

## 8. Análise estatística

Os dados obtidos no presente trabalho estão expressos nas

tabelas e nas figuras como média e erro padrão.

Para o estabelecimento das diferenças entre os valores obtidos nos animais operados e seus respectivos controles, aplicou-se o teste "t" de Student para amostras independentes. Compararam-se também os resultados correspondentes a cada grupo em diferentes momentos do experimento.

Neste caso, os dados foram submetidos à análise da variância, considerando-se um delineamento em blocos casualizados (DBC) e as comparações múltiplas de médias realizadas pela diferença mínima significativa (Snedecor & Cochran, 1971). Estabeleceu-se como nível mínimo de significância o valor de 0,05.

## Resultados

### 1. Efeitos da ablação dos bulbos olfatórios e do seccionamento dos nervos olfatórios em tartarugas alimentadas.

#### 1.1. Glicemia

Na tartaruga *Chrysemys dorsibigni*, a ablação dos bulbos olfatórios (bulbectomia), bem como o seccionamento dos nervos olfatórios (desaferentação), determinou uma significativa redução da glicemia constatada aos 4, 6 e 8 meses após a cirurgia. Este efeito hipoglicêmico foi da mesma magnitude em ambos os grupos com deficiência olfatória, quer produzida pela bulbectomia como pela desaferentação (Tabela I e Fig. 3).

As médias glicêmicas dos animais operados foram significativamente mais baixas do que a dos grupos controles utilizados simultaneamente em cada um destes períodos ( $\alpha = 0,01$ ).

Comparações entre tartarugas bulbectomizadas indicam que as hipoglicemias, verificadas aos 6 e 8 meses (em julho e em setembro, respectivamente) após a lesão, eram mais acentuadas que a verificada 4 meses (em maio) depois da lesão ( $\alpha = 0,01$ ). Idêntico panorama se observou entre as tartarugas desaferentadas.

Comparando-se o grupo testemunha, em diversas épocas, constata-se que a glicemia correspondente a julho foi menor que a correspondente ao mês de maio e setembro (para  $\alpha = 0,05$ ). Entretanto, não foi encontrada diferença significativa entre as glicemias correspondentes a maio e setembro.

#### 1.2. Peso corporal

As tartarugas bulbectomizadas, as desaferentadas e as testemunhas apresentaram 4 meses (em maio) após as lesões pesos corporais significativamente maiores que aqueles que lhes correspondiam ao início do experimento (em janeiro), para  $\alpha = 0,001$ .

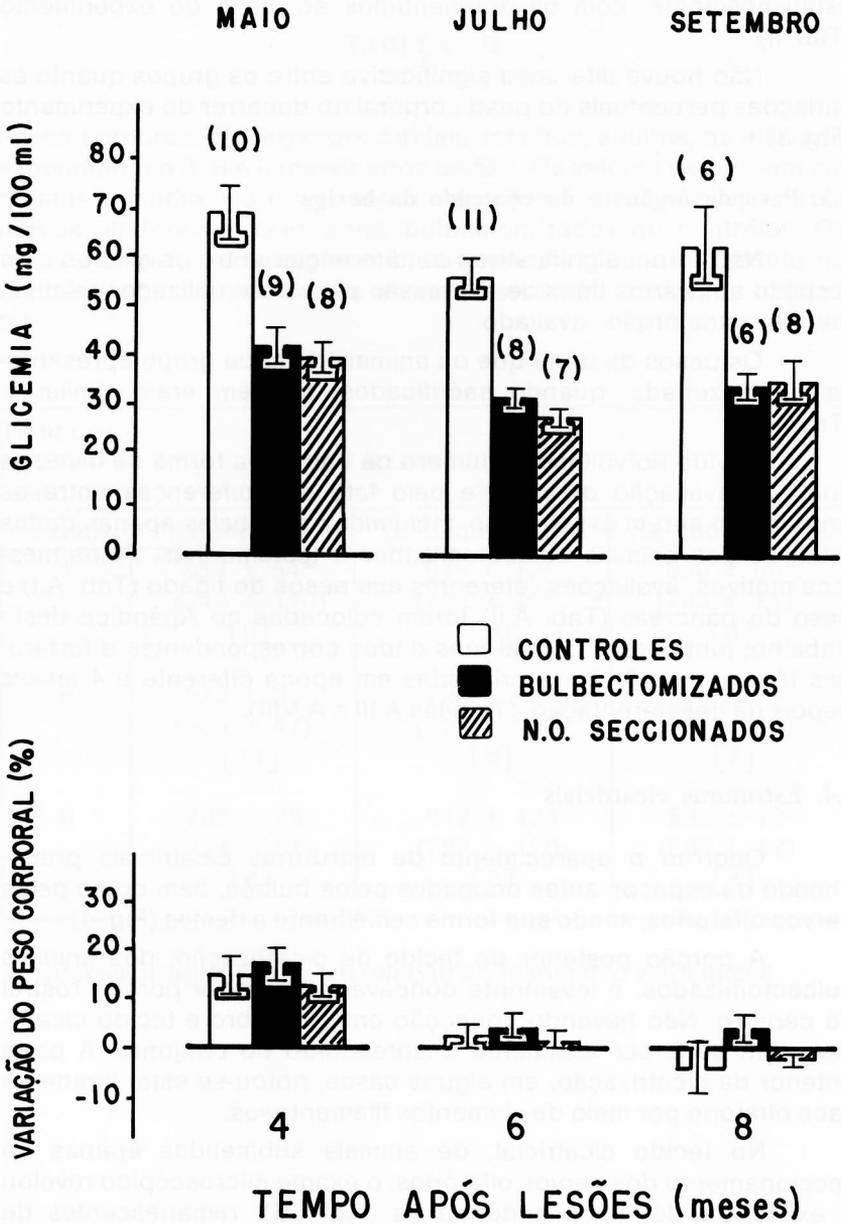
Os pesos corporais posteriores, correspondentes aos 6 e 8 meses (em julho e em setembro) após as lesões, igualaram-se,

TABELA I

Níveis glicêmicos de *Chrysemys dorsignyi*, machos, adultos, 4, 6 e 8 meses após seccionamento dos nervos olfatórios (n.o.) ou ablação dos bulbos olfatórios. Os valores estão expressos como média e erro padrão. Entre parênteses, o número de animais utilizados em cada grupo.

Tempo após a lesão (meses)	GLICEMIA (mg/100 ml)		
	controles	bulbectomizados	n.o. seccionados
4	68,8 ± 5,5 (10)	42,1 ± 3,4* (9)	40,3 ± 2,7* (8)
6	55,6 ± 3,3 (11)	30,4 ± 1,8* (8)	28,1 ± 1,7* (7)
8	62,3 ± 7,8 (6)	34,3 ± 2,3* (6)	34,8 ± 3,7* (8)

\* Valor significativamente diferente do controle correspondente.



**Figura 3:** Variação da glicemia e peso corporal de *Chrysemys dorsbigni*, machos, adultos, após ablação dos bulbos olfatórios e seccionamento dos nervos olfatórios.

estatisticamente, com os apresentados ao início do experimento (Tab. II).

Não houve diferença significativa entre os grupos quanto às variações percentuais do peso corporal no decorrer do experimento (Fig. 3).

### 1.3. Peso de órgãos e do conteúdo da bexiga

Não foram significativas as diferenças entre os grupos com respeito aos vários tipos de expressão para peso utilizados relativamente a cada órgão avaliado.

Os pesos da urina que os animais de cada grupo apresentavam armazenada, quando sacrificados, também eram similares. (Tab. III).

Devido ao volumoso número de dados na forma de diversos tipos de avaliação de peso e pelo fato das diferenças entre os grupos não serem expressivas, incluímos nas tabelas apenas dados relativos aos animais bulbectomizados e testemunhas. Pelos mesmos motivos, avaliações referentes aos pesos do fígado (Tab. A.I) e peso do pâncreas (Tab. A.II) foram colocadas no Apêndice deste trabalho, juntamente com alguns dados correspondentes a tartarugas fêmeas que foram sacrificadas em época diferente e 4 meses depois da desaferentação. (Tabelas A.III a A.VIII).

### 1.4. Estruturas cicatriciais

Ocorreu o aparecimento de estruturas cicatriciais preenchendo os espaços antes ocupados pelos bulbos, bem como pelos nervos olfatórios, sendo sua forma semelhante a destes (Fig. 4).

A porção posterior do tecido de cicatrização, dos animais bulbectomizados, é levemente côncava, aderindo à porção rostral do cérebro. Não havendo conexão entre cérebro e tecido cicatricial, este pode ser facilmente despreendido do conjunto. A parte anterior da cicatrização, em alguns casos, notou-se estar ligada ao saco olfatório por meio de elementos filamentosos.

No tecido cicatricial, de animais submetidos apenas ao seccionamento dos nervos olfatórios, o exame microscópico revelou a existência de tubos endoneurais (Fig. 5B), remanescentes de provável regeneração e degeneração de fibras na porção mais próxima do saco olfatório (periferia).

De uma forma geral, a observação microscópica revelou que as estruturas de cicatrização constituem-se de proliferações conetivais, conforme pode ser observado na Fig. 5A. As estruturas

TABELA II

Pesos corporais de *Chrysemys dorbigni*, machos, adultos, ao início do experimento e 4, 6 e 8 meses após lesões. Os valores expressam em gramas a média e o erro padrão correspondente aos grupos com nervos olfatórios seccionados, bulbectomizados ou controles. Os valores entre parenteses indicam o respectivo peso registrado no dia das lesões. O número de animais estudados está entre colchetes.

Tempo após a lesão (meses)	PESO CORPORAL (g)		
	controles	bulbectomizados	n.o.seccionados
4	854 ± 54* (646 ± 110) [9]	919 ± 72* (793 ± 70) [9]	850 ± 56* (763 ± 71) [8]
6	672 ± 36 (666 ± 47) [11]	720 ± 82 (734 ± 93) [8]	600 ± 10 (596 ± 34) [7]
8	709 ± 78 (728 ± 51) [6]	817 ± 134 (787 ± 120) [6]	582 ± 19 (596 ± 17) [8]

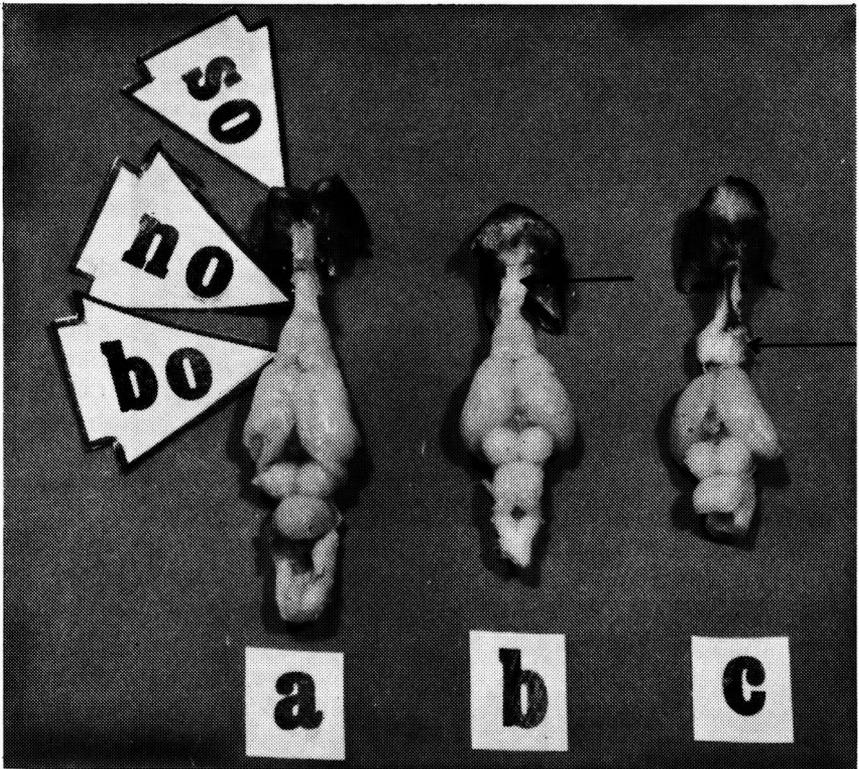
\* Diferença significativa em relação ao respectivo valor inicial.

TABELA III

Pesos correspondentes à *Chrysemys dorbigni*, machos, adultos, bulbectomizados 8 meses antes, e ao respectivo grupo testemunha. N representa o número de animais de cada grupo sacrificado no mês de outubro. Os valores são apresentados como média e erro padrão.

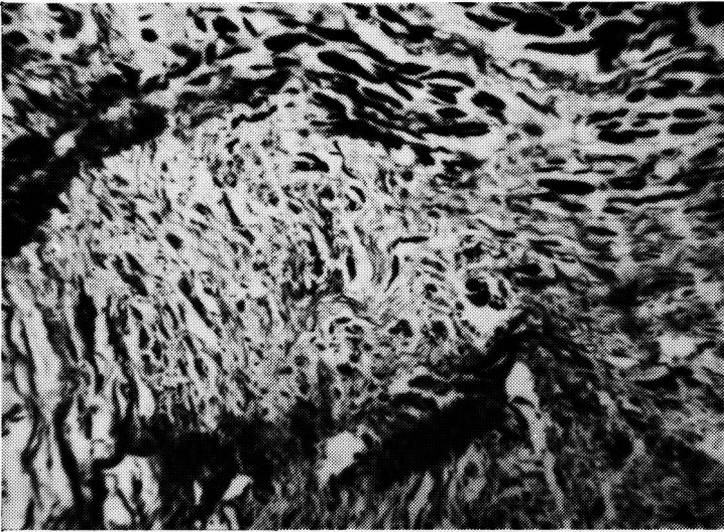
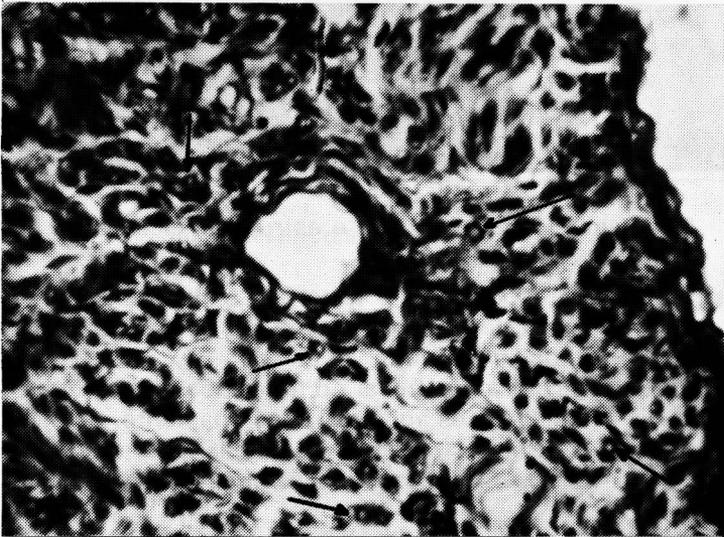
Animal ou correspondente	PESOS (g)	
	bulbectomizadas N = 9	testemunhas N = 10
tartaruga	763 ± 96	700 ± 48
urina	149 ± 22	123 ± 18
carapaça e plastrão	257 ± 42	213 ± 17
tartaruga sem urina	613 ± 80	576 ± 41
tartaruga sem urina e sem carapaça e plastrão	372 ± 36	375 ± 33

Sem diferença significativa entre os grupos.



**Figura 4:** Encéfalo, sistema olfatório e estruturas cicatriciais em *Chrysemys dorsalis*.

- Em a:** correspondente à tartaruga testemunha (so = saco olfatório; no = nervos olfatórios; bo = bulbos olfatórios)
- Em b:** estrutura cicatricial no lugar dos nervos olfatórios, 8 meses após seu seccionamento.
- Em c:** estrutura cicatricial no lugar dos bulbos e nervos olfatórios, 8 meses após a bulbectomia.

**A****B**

**Figura 5:** Cortes histológicos do tecido cicatricial na área do sectionamento dos nervos olfatórios próxima ao saco olfatório. Cortes de 25 m, corados com hematoxilina férrica de Heidenhain. Oito meses após, em **A** – proliferação conetival (aumento 6 x) em **B** – permanência de tubos endoneurais (aumento 16 x)

surgidas no lugar dos nervos e bulbos olfatórios têm natureza diferente destes, não se restabelecendo, portanto, a função antes executada por eles.

## **2. Efeitos do seccionamento dos nervos olfatórios durante jejum e realimentação: glicemia.**

Na Tabela IV e Fig. 6 encontram-se os valores glicêmicos de tartarugas, fêmeas, com nervos olfatórios seccionados, submetidas a 23 dias de jejum e, após, realimentadas. A glicemia basal, isto é, determinada após 24 horas sem alimentação, foi similar a dos animais utilizados como controle. Depois de 1 a 7 dias do seccionamento dos nervos olfatórios e simultâneo jejum, verificou-se um aumento da glicemia em relação aos valores basais. Esta diferença é estatisticamente significativa apenas aos 7 dias. Os animais testemunhas, porém, nesse mesmo período de jejum, não apresentaram variações significativas da glicemia. Comparando-se as médias glicêmicas dos animais de ambos os grupos nesse período de jejum, não se verificaram diferenças significativas.

Decorridos 23 dias de jejum, a glicemia de tartarugas operadas e de tartarugas testemunhas, sofreu uma redução significativa em comparação com seus respectivos valores basais. A hipoglicemia foi, no entanto, muito mais acentuada nos animais com nervos olfatórios seccionados ( $\alpha = 0,01$ ). Depois de aproximadamente 3 meses de realimentação (120 dias do experimento), os níveis glicêmicos dos animais do grupo controle retornaram aos valores basais, enquanto que no grupo sem nervos olfatórios a glicemia permaneceu significativamente mais baixa. Diferenças significativas são encontradas quando se comparam estes dados com os respectivos níveis basais, ou com a média glicêmica obtida aos 120 dias, no grupo controle.

## **3. Teste de sensibilidade à insulina em *Chrysemys dorbigni*, fêmeas, adultas, com nervos olfatórios seccionados.**

A injeção de insulina (1 U/kg), por via endovenosa, nas tartarugas com nervos olfatórios seccionados havia 4 meses, produziu inicialmente (de 1 a 4h30min) um ligeiro acréscimo da glicemia, embora não significativo. A partir de então, observou-se uma hipoglicemia que foi máxima às 12 horas, quando a média glicêmica foi estatisticamente diferente dos valores iniciais. Depois de 28 horas, desapareceu essa diferença dos valores iniciais (Tabela V).

TABELA IV

Níveis glicêmicos de *Chrysemys dorsbigni*, fêmeas, adultas, iniciais, subseqüentes ao seccionamento dos nervos olfatórios com jejum (até 23º dia), e após realimentação (até 4º mês). Os valores entre colchetes expressam a variação percentual havida no 23º dia em relação ao nível basal. Entre parênteses está o número de animais estudados.

Tempo após a lesão	GLICEMIA (mg/100 ml)	
	controles	n.o.seccionados
0 h	62,1 ± 7,6 (7)	59,6 ± 5,6 (9)
1º dia	62,9 ± 6,1 (7)	74,1 ± 6,7 (9)
7º dia	70,0 ± 6,4 (7)	78,5 ± 7,7* (9)
23º dia	53,7 ± 6,0* (7) [-12,0 ± 4,4]*	37,2 ± 1,1*c (9) [-33,7 ± 5,1]*c
120º dia	67,3 ± 3,8 (6)	40,9 ± 1,8*c (6)

\* Diferença significativa em relação ao valor basal.

c Diferença significativa em relação ao grupo controle.

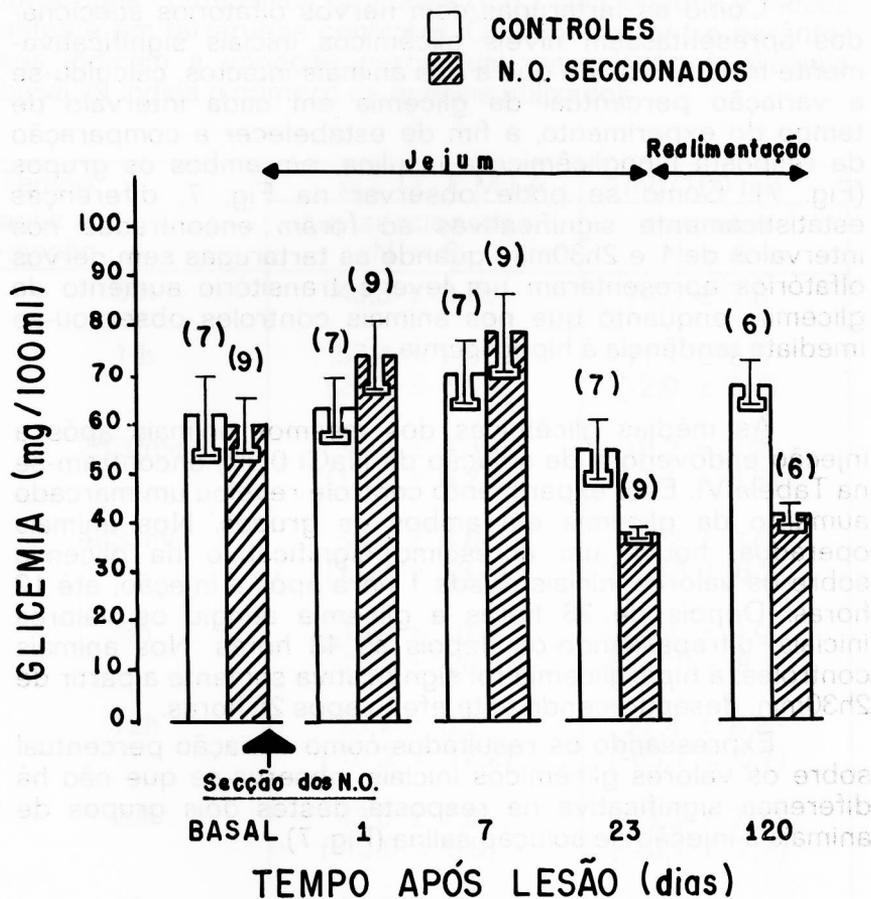


Figura 6: Variações dos níveis glicêmicos de *Chrysemys dorsignii*, fêmeas, adultas, subsequentes ao seccionamento dos nervos olfatórios (n.o.), jejum, e após realimentação.

Nas tartarugas testemunhas, a injeção de insulina, em igual dose e via de administração, determinou uma queda mais precoce da glicemia, cujos valores se apresentaram significativamente diferentes dos níveis basais a partir das 8 horas. A hipoglicemia foi máxima após 12 horas de injeção de insulina e perdurou até 28 horas. Depois de 48 horas, a glicemia atingiu os valores iniciais (Tabela V).

Como as tartarugas com nervos olfatórios seccionados apresentassem níveis glicêmicos iniciais significativamente mais baixos do que a dos animais intactos, calculou-se a variação percentual da glicemia em cada intervalo de tempo do experimento, a fim de estabelecer a comparação da resposta hipoglicêmica à insulina, em ambos os grupos (Fig. 7). Como se pode observar na Fig. 7, diferenças estatisticamente significativas só foram encontradas nos intervalos de 1 e 2h30min, quando as tartarugas sem nervos olfatórios apresentaram um leve e transitório aumento da glicemia, enquanto que nos animais controles observou-se imediata tendência à hipoglicemia.

As médias glicêmicas dos mesmos animais após a injeção endovenosa de solução de NaCl 0,9% encontram-se na Tabela VI. Este experimento controle revelou um marcado aumento da glicemia em ambos os grupos. Nos animais operados, houve um acréscimo significativo da glicemia sobre os valores iniciais desde 1 hora após a injeção, até 12 horas. Depois de 28 horas a glicemia atingiu os valores iniciais, ultrapassando-os depois às 48 horas. Nos animais controles, a hiperglicemia foi significativa somente a partir de 2h30min, desaparecendo este efeito após 28 horas.

Expressando os resultados como variação percentual sobre os valores glicêmicos iniciais, observa-se que não há diferença significativa na resposta destes dois grupos de animais à injeção de solução salina (Fig. 7).

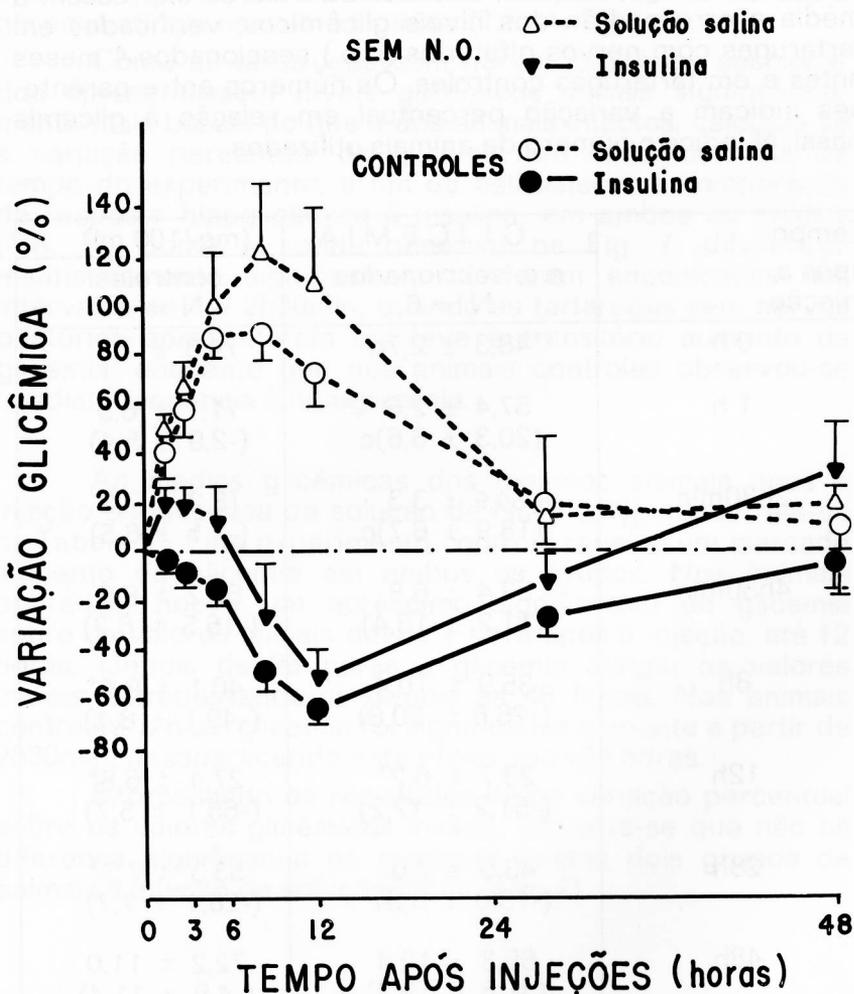
TABELA V

Valores glicêmicos após injeção endovenosa de insulina 4 meses após o seccionamento dos nervos olfatórios de *Chrysemys dorsbigni*, fêmeas, adultas. Os valores expressam a média e erro padrão dos níveis glicêmicos, verificados em tartarugas com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes e em tartarugas controles. Os números entre parênteses indicam a variação percentual em relação à glicemia basal. N indica o número de animais utilizados.

Tempo após a injeção	GLICEMIA (mg/100 ml)	
	n.o. seccionados N = 6	controles N = 6
0 h	48,3 ± 2,7 <sub>c</sub>	74,3 ± 7,5
1 h	57,4 ± 2,6 (20,3 ± 6,6) <sub>c</sub>	71,1 ± 6,5 (-2,9 ± 5,4)
2h30min	56,9 ± 3,3 (18,9 ± 6,7) <sub>c</sub>	(8,2 ± 7,2 (-7,1 ± 6,5)
4h30min	53,4 ± 6,8 (11,2 ± 13,4)	62,2 ± 8,0 (-16,5 ± 6,2)
8h	35,9 ± 10,4 (-26,6 ± 20,8)	40,1 ± 9,9* (-49,1 ± 8,1)
12h	23,7 ± 6,2* (-51,2 ± 12,2)	27,4 ± 6,8* (-65,1 ± 5,7)
28h	43,0 ± 7,0 (-13,0 ± 9,9)	53,3 ± 7,7* (-28,1 ± 7,7)
48h	65,3 ± 12,4 (31,3 ± 19,3)	72,2 ± 11,0 (-4,9 ± 11,4)

\* Diferença significativa em relação ao valor basal.

c Diferença significativa em relação ao controle.



**Figura 7:** Variações glicêmicas após administração endovenosa de insulina e solução de NaCl, 4 meses depois do seccionamento dos nervos olfatórios de *Chrysemys dorsalis* fêmeas adultas.

TABELA VI

Valores glicêmicos após injeção endovenosa de solução de NaCl 0,9% em *Chrysemys dorsibigni*, fêmeas, adultas. Os valores expressam a média e erro padrão dos níveis glicêmicos verificados em animais com os nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes e em animais controles. Os números entre parênteses indicam a variação percentual em relação à glicemia basal. N indica o número de animais utilizados.

Tempo após a injeção	GLICEMIA	
	n.o. seccionados	(mg/100 ml) controles
0h	45,2 ± 3,1	73,5 ± 6,7
1h	67,5 ± 5,8 *c (49,3 ± 7,0)	103,0 ± 11,0 (41,0 ± 10,6)
2h30min	75,1 ± 6,3 *c (67,1 ± 10,3)	116,2 ± 15,2 * (57,8 ± 11,2)
4h30min	93,8 ± 5,5 =c (98,9 ± 21,7)	136,8 ± 14,5 * (86,4 ± 9,1)
8h	96,1 ± 7,8 *c (120,4 ± 27,6)	139,1 ± 16,4 * (88,7 ± 10,5)
12h	88,5 ± 8,5 * (106,4 ± 32,0)	128,0 ± 21,5 * (70,6 ± 15,1)
28h	50,1 ± 4,4 (13,0 ± 12,1)	93,5 ± 31,6 (18,5 ± 26,7)
48h	53,6 ± 5,0 * (18,6 ± 9,1)	87,2 ± 32,9 (9,5 ± 29,0)

\* Diferença significativa em relação ao valor basal.

c Diferença significativa em relação ao correspondente do grupo controle.

## Discussão

A tartaruga possui um sulco bem visualizável na porção posterior dos bulbos olfatórios. O corte feito acompanhando esse sulco permitiu a extirpação total destes bulbos e a obtenção de animais com lesões muito semelhantes.

As características anatômicas dos nervos olfatórios da tartaruga possibilitaram a desaferentação olfatória por via transnasal. Usamos uma broca em movimento porque a utilização de instrumentos cortantes não permitiria certeza quanto ao fato de se ter ou não seccionado a totalidade daquelas fibras. Também foi mínima a probabilidade de permanecerem fibras intatas, pois na tartaruga *Chrysemys dorsigni* todo o conjunto das fibras perpassa por um único foramen, ao contrário do que ocorre em mamíferos, onde as fibras penetram no crânio passando por múltiplas perfurações do etmóide (placa cribiforme). Mesmo assim, o exame microscópico do tecido cicatricial formado no espaço antes ocupado pelos nervos olfatórios testemunhou a não existência de fibras nervosas. O mesmo ocorreu com o tecido formado após a ablação dos bulbos olfatórios.

A sobrevivência da maioria dos animais até o final do experimento atestou a viabilidade da bulbectomia e do seccionamento dos nervos olfatórios pelas técnicas por nós utilizadas, para fins de pesquisa, nesta espécie animal. Estas técnicas, segundo Alberts (1974), causam deficiência olfatória. Long e Tapp (1970) colheram evidências de que, em ratos, os bulbos olfatórios são necessários para a detecção de odores. Mas não se pode concluir de imediato, se algum efeito induzido pela bulbectomia é atribuível somente à ausência da função olfatória, pois Edwards (1974) concluiu, de seus experimentos, que os bulbos olfatórios de camundongos têm envolvimento não sensorial na mediação de comportamentos sociais. Apesar de não haver informações sobre se isto ocorre em tartarugas julgamos que, se a desaferentação e a bulbectomia induzem o mesmo efeito, é porque este está vinculado à deficiência sensorial estabelecida pelas lesões.

Em ratos já fora constatado que depois de 30 dias da ablação dos bulbos olfatórios, estabelece-se um estado de

hipoglicemia (Perassi et al., 1975). Nossos resultados mostram que, na tartaruga *Chrysemys dorbigni*, a glicemia também se reduz quando se faz a ablação dos bulbos olfatórios. Verificamos, além disto, que a desaferentação (secção dos nervos olfatórios) produz o mesmo efeito.

A hipoglicemia observada nos animais bulbectomizados e desaferentados poderia ser devida à menor ingestão de alimentos. Estes animais olfato deficientes poderiam ter dificuldade em localizar o alimento. Entretanto, além de ser restrito o espaço físico no qual eram mantidos, a quantidade de peixe fresco oferecida era abundante, sendo pouco provável que elas não mantivessem contato visual com este alimento.

Por outro lado, sabe-se que existe uma grande interrelação entre o olfato e o gosto. Muitas pessoas com olfação reduzida, como, por exemplo, durante um resfriado, comem menos pois dizem que não sentem bem o gosto da comida. Entretanto, ao observarmos as tartarugas operadas, verificamos que apresentavam, frente ao alimento, o mesmo comportamento que as não lesadas. Ainda, ao final do 4º mês de experimentação (maio), todos os grupos estavam com peso elevado em relação ao do início do experimento. Embora este aumento tenha sido maior nos animais bulbectomizados, a diferença não foi significativa. No 6º e 8º meses (julho e setembro), o peso corporal das tartarugas estava diminuído em relação ao verificado no 4º mês. Nesta ocasião a variação entre os bulbectomizados foi menor, embora sem diferença estatística. Portanto, as oscilações relativas ao peso corporal dos animais lesados acompanharam aquelas que ocorrem normalmente com as tartarugas normais e que parecem depender de variações estacionais na ingestão e armazenamento de nutrientes. Assim, com relação ao peso corporal, nossos resultados concordam com os de Perassi et al. (1975) que não observaram alteração de peso de ratos bulbectomizados na fase adulta.

Embora as tartarugas continuem a crescer, mesmo após atingirem a maturidade, 8 meses é um período relativamente curto para avaliar tal parâmetro nesta espécie animal. Ratos, cujo desenvolvimento é mais rápido, quando foram bulbectomizados em fase jovem (pré-púberes ou pubescentes) por Perassi et al. (1975) sofreram um retardo no seu crescimento. Mesmo em ratos e camundongos que foram bulbectomizados em fase adulta por Whitten (1956) e Cooper & Cowley (1976) houve redução no peso corporal. Portanto,

pelos resultados referidos, em alguns grupos de animais pode-se cogitar da possibilidade de que a remoção dos bulbos olfatórios interfira na secreção do hormônio de crescimento.

É sabido que o hormônio de crescimento (HC) também participa na regulação da glicemia. Como não determinamos sua concentração plasmática e hipofisária não podemos afirmar se as operações realizadas modificaram sua secreção. Sabe-se que o HC participa no transporte de aminoácidos para as células, mobiliza gorduras, aumenta os níveis de ácidos graxos livres não esterificados do plasma, tem ação anti-insulínica e, ainda entre outras ações, ajuda a manter a glicemia durante o jejum. Embora haja esta possibilidade de modificação na secreção do HC provocado pelas lesões, o teste de sensibilidade à insulina foi semelhante ao dos animais intatos. Rummler et al. (1978) também verificaram que os níveis de ácidos graxos livres plasmáticos são idênticos em tartarugas alimentadas, quer estejam intatas ou estejam com os nervos olfatórios seccionados há 4 meses.

Por outro lado, em tartarugas, a urina armazenada tem importância nas avaliações do peso corporal, pois a bexiga destes animais comporta grande volume. Este volume foi determinado apenas ao final das experiências. Mas, novamente, as variações paralelas no peso corporal observadas em todos os grupos parecem descartar este fator.

É interessante observar que as tartarugas possuem ainda uma bexiga urinária acessória. Parece paradoxo que, num animal que corre o risco de se desidratar ao ficar muito tempo fora da água, exista um volume tão grande de urina. Na realidade, ao contrário dos mamíferos, o conteúdo da bexiga das tartarugas não é necessariamente eliminado, e Shellabarger et al. (1956) lembram que existe a possibilidade de reabsorção de alguns de seus componentes e, por possuírem uma cloaca, o conteúdo da bexiga urinária desemboca na porção posterior do trato gastrointestinal onde é provável que também ocorra alguma reabsorção. Assim, a capacidade de armazenar grande volume de urina e a possibilidade de reabsorver água parecem ser processos que podem compensar a eventual escassez da mesma. É provável que esta reabsorção ocorra também com a glicose que porventura surja na urina deste animal, evitando com isso perdas durante o inverno.

Uma vez considerada a grande contribuição da urina no peso corporal da tartaruga e a impossibilidade de determinar a sua quantidade durante as avaliações intermediárias, pareceu-nos que o peso corporal não é um parâmetro preciso para inferir sobre a assimilação de alimento sólido. Considerando ainda que o consumo de alimento poderia ser diferente nos animais olfato-deficientes, repetiu-se a experiência, deixando, desta feita, os animais em jejum. Como já havíamos registrado que o seccionamento dos nervos conduzia ao mesmo resultado que a bulbectomia, constituiu-se então apenas 2 grupos, um de animais pseudo-desafereentados e outro de animais desafereentados. Como já fora visto que a desafereentação em machos induzia hipoglicemia, utilizamos nesta experiência apenas fêmeas averiguando se este efeito é independente de sexo. A glicemia dos animais testemunhas caiu durante o jejum, mas esta queda foi mais acentuada nos animais que ao início do jejum tinham sido desafereentados. Este efeito parece comprovar que não houve interferência, na hipoglicemia estabelecida pelos tratamentos, de qualquer fator alimentar. Este experimento também trouxe evidências que o efeito hipoglicêmico determinado pela desafereentação é independente do sexo.

As nossas avaliações, nos animais mantidos com oferta de alimento, se realizaram após as lesões, nos meses de maio, julho e setembro abrangendo outono, inverno e primavera. No inverno (julho) os animais testemunhas apresentaram glicemia menor que nos demais meses, embora Machado (1977) não constatasse variação da glicemia em diferentes períodos do ano. As tartarugas lesadas apresentaram em julho hipoglicemia mais acentuada que em maio. Enquanto a glicemia dos animais testemunhas retornava, em setembro, aos níveis de maio, a glicemia dos animais lesados permanecia igualmente reduzida. Assim a hipoglicemia das tartarugas olfato-deficientes não pode ser explicada por prováveis fatores estacionais.

Sabe-se que o fígado é um importante órgão regulador da glicemia. O nível de glicose do sangue é mantido estável com a contribuição deste órgão que a libera, retém e mesmo a sintetiza a partir de outros substratos. Na tartaruga, o fígado também é especialmente importante e parece armazenar os nutrientes que serão utilizados durante o inverno, época em que reduz a ingestão de alimento. Este fato parece estar refletido na significativa redução do peso do fígado verificado, segundo dados pessoais, ao final do inverno em comparação com os verificados ao início deste período. Entretanto, comparando os pesos do fígado de animais bulbectomizados, 8 meses antes, com os de animais testemunhas não se registrou diferença significativa. O mesmo ocorreu com as tartaru-

gas que estavam 4 ou 8 meses com os nervos olfatórios seccionados. Perassi et al. (1975) verificaram que o fígado de ratos bulbectomizados em fase pré-púbere apresentava menor peso relativo que o correspondente aos animais controles. Perassi & Loyber (1973) também constataram diminuição dos níveis de glicogênio hepático após a bulbectomia em ratos adultos. Este parâmetro ainda não foi por nós avaliado.

Por outro lado, a hipoglicemia observada nas tartarugas bulbectomizadas e desaferentadas pode ter sido ocasionada por alteração endócrina. As conexões dos b.o. com o hipotálamo e deste com a hipófise dão suporte anatômico a esta afirmação. Além disto, a possibilidade de que haja distúrbios de natureza endócrina após a ablação dos bulbos olfatórios é levantada a partir do relato de Tessitore et al. (1968) que constataram aspecto histológico de diminuição de neurosecreção no hipotálamo de ratos bulbectomizados. Por outro lado Giammanco et al. (1968) não verificaram alteração no volume da hipófise de ratos sem b.o. Nas tartarugas, pela pesagem de sua hipófise 4 meses após o seccionamento dos n.o. (Tabela A.VIII) também não se constatou diferença entre animais lesados e testemunhas. Em relação ainda a esta glândula, Balboni (1965) observou desgranulações em células tireotróficas de ratos bulbectomizados 30 dias antes, o que consignava a elas um aspecto hiperativo.

Em ratos bulbectomizados há 4 e 6 meses, células tireotróficas apareciam hiper cromatizadas, aspecto que corresponde a uma condição hipotireóidea (Balboni, 1967). Evidências de hipotireoidismo foram colhidas por Belló (1975) que, efetuando lesões eletrolíticas em bulbos olfatórios de ratos, verificou que, já 27 dias depois, a captação de  $I^{131}$  pela tireóide estava reduzida. Num trabalho de Digiesi et al. (1964) a captação de  $I^{131}$  pela tireóide de ratos bulbectomizados, 25 dias antes, estava aumentada. Estes investigadores consideram a possibilidade de que tal resultado se devesse ao efeito ainda presente do choque operatório. No trabalho de Belló (1975) há pouco referido, também houve redução dos níveis de iodo ligado às proteínas (PBI<sup>127</sup>). Em *Chrysemys dorsibigni* olfato deficientes há 6 meses não se registraram diferenças quanto à captação de  $I^{131}$ , níveis de T<sub>4</sub>, índices de T<sub>3</sub> e peso da tireóide (Rummler et al., 1978). Tessitore et al. (1968) verificaram diminuição no volume e peso da tireóide de ratos bulbectomizados, assim como Giammanco et al. (1968) observaram menor volume dos lóbulos tireóideos de ratos bulbectomizados há 5 meses, devendo-se entretanto considerar que estes ratos haviam sido operados quando impúberes, condições em que Cooper & Cowley (1976) e Perassi et al. (1975) verificaram produzir retardo de crescimento nos animais. Sabe-se

que a tiroxina é transportada por uma proteína que migra eletroforéticamente entre as globulinas  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  e por uma pré-albumina. A extirpação dos bulbos olfatórios (Loyber & Palma, 1970) ou a sua estimulação eletroquímica (Perassi & Loyber, 1973), causam respectivamente diminuição e aumento de proteínas séricas totais, de albuminas e globulina  $\sqrt{\alpha}$  e  $\sqrt{\beta}$ . Portanto, é possível que as proteínas cujos níveis circulantes são influenciados pelos bulbos olfatórios estejam relacionados com o transporte de iodo hormonal. Mas não sabemos se nas tartarugas ocorre o mesmo tipo de transporte e se a bulbectomia afeta este sistema transportador. Entretanto, os resultados que colhemos nas condições experimentais deste trabalho, e provas já referidas, permitem-nos pensar que a hipoglicemia subsequente às lesões não seja devida à alteração do funcionamento da tireóide.

Perassi et al. (1972) relata algum acréscimo na sensibilidade à insulina em ratos bulbectomizados 30 dias antes. Semelhante teste foi realizado com um grupo de *Chrysemys dorbigni* que estavam com os n.o. seccionados há 4 meses e apresentando quadro de hipoglicemia. Cuidou-se entretanto de levar em conta as eventuais respostas glicêmicas causadas pelo procedimento experimental no animal. Para isso realizou-se um teste no qual se injetou apenas solução de NaCl em vez de insulina. Verificou-se que o stress do procedimento produzia aumento da glicemia em animais em ambos os grupos porém maior nos lesados. Com a injeção de insulina a redução glicêmica no grupo com n.o. seccionados tornou-se significativa apenas 12 horas após, enquanto que no grupo controle já era significativa 8 horas depois e assim permaneceu nas 12 e 28 horas após a administração do hormônio. Embora partindo de níveis diferentes, desde 1h depois de receberem sobrecarga de insulina, os níveis glicêmicos de ambos os grupos não foram diferentes estatisticamente. Isoladamente, estes resultados parecem indicar uma resposta menos eficiente no grupo lesado, mas analisando-se os efeitos registrados pelo teste da injeção de solução salina, verificamos que os animais sem n.o. já apresentavam acréscimo significativo na glicemia 1h após a injeção, enquanto no grupo controle o acréscimo foi significativo 2h30min após. Até 12 horas subsequentes à injeção de solução salina, ambos os grupos apresentavam níveis mais elevados que os respectivos níveis glicêmicos basais, registrando-se entretanto no grupo lesado um novo acréscimo glicêmico durante a avaliação às 48 horas. Estes resultados parecem indicar que as tartarugas com n.o. seccionados são mais susceptíveis ao tratamento operacional (stress) durante o teste, fato que estaria mascarando as variações glicêmicas resultantes apenas da sobrecarga de insulina, não permitindo uma conclusão definitiva de alguma provável alteração da sensibilidade à

insulina, nos animais desaferentados 4 meses antes. Eichelman et al. (1972) também consideram que ratos bulbectomizados têm resposta exagerada ao manuseio, fato que estaria refletido numa hipertrofia adrenal.

De outra forma, Eichelman et al. (1972) registraram uma diminuição na atividade da tiroxina hidroxilase. Este fato é interpretado como indicativo de hipertrofia cortical adrenal. Mas, também neste caso, a avaliação foi realizada 21 dias após a bulbectomia dos ratos.

Em ratos com lesões de área septal e nos quais foi provocado stress, o peso das adrenais mostrou-se maior aos 16 dias depois, mas, nos animais que não foram submetidos a qualquer stress, o peso das adrenais estava inalterado (Montgomery & Berkut, 1969). Já Cairncross et al. (1977) registraram aumento da concentração plasmática de corticosterona em ratos bulbectomizados quer fossem submetidos ou não à indução de stress.

Quanto às adrenais de tartarugas adultas com n.o. seccionados 4 meses antes, registramos inexistência de diferença de peso em confronto com o grupo controle (Tabela A.VI). Montilla et al. (1977) também verificaram não haver diferença no peso das adrenais de ratos sem b.o. há 4 e 8,5 meses, enquanto Kling (1964) registrou pesos menores para estas glândulas em ratos bulbectomizados em fase pré-púbere. Entretanto, Giammanco et al. (1968) não observaram diferença no volume das adrenais mesmo em ratos bulbectomizados na prebuscência. Eichelman et al. (1972) constataram que ao lado do acréscimo de peso também aumentaram os níveis de corticosterona, embora que estes níveis não se diferenciavam dos apresentados por ratos operados ficticiamente. Há entretanto evidências fisiológicas de relações entre bulbos olfatórios e atividade das adrenais. Assim, Loyber et al. (1971) registraram diminuição dos níveis de corticosterona em ratos bulbectomizados 30 dias antes. Efeito contrário apresentaram os ratos nos quais Lecuona et al. (1972) provocaram estimulação eletrolítica dos b.o. Palma et al. (1971) registraram aumento na depleção de ácido ascórbico nas adrenais de ratos bulbectomizados. Loyber et al. (1973/4) encontraram níveis mais baixos de corticosterona em ratos sem b.o. quer fossem lesados em fase adulta quanto em fase imatura. Entretanto, Montilla et al. (1977) constataram o desaparecimento de diferença entre níveis vespertinos e matutinos em ratos sem b.o. há 25 dias. De outra forma, ainda, evidências de hiperfunção das adrenais são dadas por Loyber et al. (1971) que registraram redução na eliminação de 1-7 hidroxiesteróides após a bulbectomia de ratos. Assim, embora os hormônios adrenais participem da regulação da glicemia, e as lesões olfatórias possam modificar sua

que a tiroxina é transportada por uma proteína que migra eletroforéticamente entre as globulinas  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  e por uma pré-albumina. A extirpação dos bulbos olfatórios (Loyber & Palma, 1970) ou a sua estimulação eletroquímica (Perassi & Loyber, 1973), causam respectivamente diminuição e aumento de proteínas séricas totais, de albuminas e globulina  $\sqrt{\alpha}$  e  $\sqrt{\beta}$ . Portanto, é possível que as proteínas cujos níveis circulantes são influenciados pelos bulbos olfatórios estejam relacionados com o transporte de iodo hormonal. Mas não sabemos se nas tartarugas ocorre o mesmo tipo de transporte e se a bulbectomia afeta este sistema transportador. Entretanto, os resultados que colhemos nas condições experimentais deste trabalho, e provas já referidas, permitem-nos pensar que a hipoglicemia subsequente às lesões não seja devida à alteração do funcionamento da tireóide.

Perassi et al. (1972) relata algum acréscimo na sensibilidade à insulina em ratos bulbectomizados 30 dias antes. Semelhante teste foi realizado com um grupo de *Chrysemys dorbigni* que estavam com os n.o. seccionados há 4 meses e apresentando quadro de hipoglicemia. Cuidou-se entretanto de levar em conta as eventuais respostas glicêmicas causadas pelo procedimento experimental no animal. Para isso realizou-se um teste no qual se injetou apenas solução de NaCl em vez de insulina. Verificou-se que o stress do procedimento produzia aumento da glicemia em animais em ambos os grupos porém maior nos lesados. Com a injeção de insulina a redução glicêmica no grupo com n.o. seccionados tornou-se significativa apenas 12 horas após, enquanto que no grupo controle já era significativa 8 horas depois e assim permaneceu nas 12 e 28 horas após a administração do hormônio. Embora partindo de níveis diferentes, desde 1h depois de receberem sobrecarga de insulina, os níveis glicêmicos de ambos os grupos não foram diferentes estatisticamente. Isoladamente, estes resultados parecem indicar uma resposta menos eficiente no grupo lesado, mas analisando-se os efeitos registrados pelo teste da injeção de solução salina, verificamos que os animais sem n.o. já apresentavam acréscimo significativo na glicemia 1h após a injeção, enquanto no grupo controle o acréscimo foi significativo 2h30min após. Até 12 horas subsequentes à injeção de solução salina, ambos os grupos apresentavam níveis mais elevados que os respectivos níveis glicêmicos basais, registrando-se entretanto no grupo lesado um novo acréscimo glicêmico durante a avaliação às 48 horas. Estes resultados parecem indicar que as tartarugas com n.o. seccionados são mais susceptíveis ao tratamento operacional (stress) durante o teste, fato que estaria mascarando as variações glicêmicas resultantes apenas da sobrecarga de insulina, não permitindo uma conclusão definitiva de alguma provável alteração da sensibilidade à

insulina, nos animais desaferentados 4 meses antes. Eichelman et al. (1972) também consideram que ratos bulbectomizados têm resposta exagerada ao manuseio, fato que estaria refletido numa hipertrofia adrenal.

De outra forma, Eichelman et al. (1972) registraram uma diminuição na atividade da tiroxina hidroxilase. Este fato é interpretado como indicativo de hipertrofia cortical adrenal. Mas, também neste caso, a avaliação foi realizada 21 dias após a bulbectomia dos ratos.

Em ratos com lesões de área septal e nos quais foi provocado stress, o peso das adrenais mostrou-se maior aos 16 dias depois, mas, nos animais que não foram submetidos a qualquer stress, o peso das adrenais estava inalterado (Montgomery & Berkut, 1969). Já Cairncross et al. (1977) registraram aumento da concentração plasmática de corticosterona em ratos bulbectomizados quer fossem submetidos ou não à indução de stress.

Quanto às adrenais de tartarugas adultas com n.o. seccionados 4 meses antes, registramos inexistência de diferença de peso em confronto com o grupo controle (Tabela A.VI). Montilla et al. (1977) também verificaram não haver diferença no peso das adrenais de ratos sem b.o. há 4 e 8,5 meses, enquanto Kling (1964) registrou pesos menores para estas glândulas em ratos bulbectomizados em fase pré-púbere. Entretanto, Giammanco et al. (1968) não observaram diferença no volume das adrenais mesmo em ratos bulbectomizados na prebuscência. Eichelman et al. (1972) constataram que ao lado do acréscimo de peso também aumentaram os níveis de corticosterona, embora que estes níveis não se diferenciavam dos apresentados por ratos operados ficticiamente. Há entretanto evidências fisiológicas de relações entre bulbos olfatórios e atividade das adrenais. Assim, Loyber et al. (1971) registraram diminuição dos níveis de corticosterona em ratos bulbectomizados 30 dias antes. Efeito contrário apresentaram os ratos nos quais Lecuona et al. (1972) provocaram estimulação eletrolítica dos b.o. Palma et al. (1971) registraram aumento na depleção de ácido ascórbico nas adrenais de ratos bulbectomizados. Loyber et al. (1973/4) encontraram níveis mais baixos de corticosterona em ratos sem b.o. quer fossem lesados em fase adulta quanto em fase imatura. Entretanto, Montilla et al. (1977) constataram o desaparecimento de diferença entre níveis vespertinos e matutinos em ratos sem b.o. há 25 dias. De outra forma, ainda, evidências de hiperfunção das adrenais são dadas por Loyber et al. (1971) que registraram redução na eliminação de 1-7 hidroxiesteróides após a bulbectomia de ratos. Assim, embora os hormônios adrenais participem da regulação da glicemia, e as lesões olfatórias possam modificar sua

secreção, necessário se faria considerar o grau de stress dos animais bulbectomizados para conclusões mais definitivas. No caso das nossas tartarugas, o período experimental de 4 meses com desaferentação não alterou o peso das adrenais. Isto parece indicar que os procedimentos experimentais não induziram a stress importante, capaz de modificar o peso destas glândulas. Ao estudarmos, também, o peso de outros órgãos, verificamos não haver variação significativa. Consideramos que estes órgãos não devam ser descartados em investigações posteriores pois pensamos que a variação de peso pode refletir alteração no seu funcionamento, mas podem também existir alterações de funcionamento que, sendo menos drásticas, não o modifiquem.

A hipoglicemia observada nos animais lesados poderia ser resultante exclusivamente de alteração nervosa. Anand & Dua (1956) mostraram que a estimulação de estruturas límbicas provoca hiperglicemia. Estes resultados estão de acordo com os nossos, porém, a demora em se estabelecer e a larga duração da hipoglicemia parecem indicar que houve alguma alteração endócrina provocada pelas lesões das estruturas nervosas.

Scott & Pfaffmann (1967) registraram potenciais no hipotálamo evocados pela passagem de odores através das narinas de ratos. A estimulação elétrica dos bulbos olfatórios e da raiz olfatória lateral também produziram uma resposta eletrofisiológica do hipotálamo. É possível, portanto, que a ausência de condução de estímulos olfatórios nas tartarugas desaferentadas repercuta a nível hipotalâmico alterando sua atividade integradora do sistema nervoso e endócrino, levando à hipoglicemia.

Devido ao fato da glicemia ser regulada por muitos fatores, existe também a probabilidade de que a desaferentação e a bulbectomia olfatórias provoquem alterações em várias estruturas. Assim, é provável que a hipoglicemia verificada seja estabelecida com a contribuição de mais de um fator.



## Conclusões

1. Constatou-se que tartarugas adultas da espécie *Chrysemys dorbigni*, machos, mantidas com oferta de alimento, podem sobreviver por um período de pelo menos 8 meses com deficiência olfatória produzida por ablação bilateral dos bulbos olfatórios ou por seccionamento dos nervos olfatórios.
2. A bulbectomia induziu um decréscimo significativo da glicemia, constatado a partir de 4 meses após a lesão.
3. O seccionamento dos nervos olfatórios provocou igualmente uma redução dos níveis glicêmicos, sendo este efeito de magnitude semelhante ao resultante da ablação total dos bulbos olfatórios.
4. Nenhuma destas situações experimentais foi acompanhada, ao final de oito meses, de alterações significativas do peso corporal ou do peso do fígado e do pâncreas.
5. O seccionamento dos nervos olfatórios em tartarugas desta mesma espécie, fêmeas, adultas, submetidas a jejum de 23 dias, produziu maior redução da glicemia do que a provocada unicamente pelo jejum. Este resultado parece indicar que a hipoglicemia decorrente da secção dos nervos olfatórios se deve a causas não alimentares.
6. As tartarugas fêmeas com nervos olfatórios seccionados há quatro meses e alimentadas não evidenciaram modificações na sensibilidade à insulina, embora apresentassem níveis glicêmicos mais baixos do que os de animais testemunhas.
7. Ao final de quatro meses da desaferentação olfatória primária, o peso corporal e o peso do fígado, da tireóide, do pâncreas, das adrenais e da hipófise, não apresentaram modificações estatisticamente significativas.
8. A desaferentação olfatória reduziu a glicemia tanto em machos como em fêmeas.



## Resumo

A deficiência olfatória experimental permanente pode ser obtida por meio da ablação bilateral dos bulbos olfatórios. Esta bulbectomia olfatória, além da perturbação sensorial, provoca modificações comportamentais e metabólicas, como por exemplo a hipoglicemia observada em ratos.

Utilizando tartarugas, procurou-se, neste trabalho, verificar se a bulbectomia e a desaferentação (secção dos nervos olfatórios) provocam o mesmo efeito na glicemia. Em animais desaferentados também realizaram-se curvas de sensibilidade à insulina. Para evitar variações no comportamento alimentar estudou-se o efeito da desaferentação sobre animais em jejum.

Foi idealizada uma técnica para secção transnasal dos nervos olfatórios. As glicemias foram avaliadas pelo método de King-Garner.

Verificou-se que:

- 1) A desaferentação e a bulbectomia olfatórias reduziram a glicemia a níveis semelhantes.
- 2) Aos 23 dias de jejum os animais desaferentados mostraram glicemia significativamente menor que as testemunhas.
- 3) As tartarugas com hipoglicemia provocada pela desaferentação olfatória não evidenciaram modificação na sensibilidade à insulina.

Embora a longa permanência do efeito pareça indicar que as lesões provocaram alteração endócrina, não encontramos modificação no peso dos órgãos que podem participar na regulação da glicemia.



## Referências Bibliográficas

- ADAMS, L. A. **An introduction to the vertebrates**. New York, J. Wiley & Sons, 1938. p. 253.
- ALBERTS, J. R. Theoretical review producing and interpreting experimental olfactory deficits. **Physiol. Behav.** **12**:657-70, 1974.
- ALDEHOFF, G. Tritt bei kalblutern nach Pancreas extirpation Diabetes mellitus auf. **Z. Biol.** **28**:293-301, 1891.
- ANAND, B. K. & DUA, S. Blood sugar changes induced by electrical stimulation of the limbic system ("Visceral Brain"). **Ind. Jour. Med. Res.** **44**:121-4, 1956.
- BALBONI, G. C. Modificazioni citologiche dell'ipofisi anteriore in seguito all'ablazione dei bulbi olfattivi nel ratto. **Boll. Soc. ital. Biol. sper.** **41**:1527-8, 1965.
- BALBONI, G. C. Sur les modifications de l'adénohypophyse, de la thyroïde et de l'ovaire après ablation des bulbes olfactifs. **Bull. Ass. Anat.** **137**:160-7, 1967.
- BARKAI, A. & ALLWEIS, C. Effect of electrical stimulation of the hypothalamus on plasma levels of free fatty acids and glucose in rats. **Metabolism.** **21**:921-7, 1972.
- BECCARI, N. **Neurologia comparata anatomo-funzionale dei vertebrati, compreso l'Uomo**. Firenze, Sansoni Ed. Scientifiche, 1943. cap. 7, p. 530-43.
- BECCARI, N. **Elementi di tecnica microscopica**. Milano, Società Editrici Libreria, 1946. p. 128-30.
- BELLÓ, A. A. **Efeito da lesão dos bulbos olfatórios na ingestão de Cloreto de Sódio. Papel da Tireóide**. Ribeirão Preto, FMRP, 1975. (Tese apresentada à FMRP, da USP, para obtenção do grau de Doutor em Fisiologia).
- BROCA, P. **Rev. Anthropol.** (Paris) **1**:385, 1878. Apud HOUSSAY, B. A. **Fisiologia humana**. Buenos Aires, El Ateneo, 1975. cap. 9, p. 1144.
- BULATAO, E. & CANNON, W. B. **Amer. J. Physiol.** **72**:295, 1925. Apud HOUSSAY, B. A. **Fisiologia humana**. Buenos Aires, El Ateneo, 1975. cap. 9, p. 1134.
- CAIN, D. P. The role of the olfactory bulb in limbic mechanisms. **Psychologic. Bull.** **81**:654-71, 1974.
- CAIRNCROSS, K. D.; WREN, A.; COX, B.; SCHNIEDEN, H. Effects of olfactory bulbectomy and domicile on stress-induced corticosterone release in the rat. **Physiol. Behav.** **19**:485-7, 1977.

- CARDEZA, A. F. Cytologia du pancréas du serpent *Xenodon merremii*. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **155**:151-2, 1961.
- COOPER, A. J. & COWLEY, J. J. The effect of litter size on the growth, survival and behavior of neonatal bulbectomized mice. *Biol. Neonate* **29**:56-65, 1976.
- COULSON, R. A. & HERNANDEZ, T. Glucose studies in Crocodilia. *Endocrinology* **53**:311-20, 1953.
- COULSON, R. A. & HERNANDEZ, T. *Biochemistry of the alligator: a study of metabolism in slow motion*. Baton Rouge, Louisiana State University Press, 1964. p. 3-35.
- COVIAN, M. R.; MIGLIORINI, R. H.; TRAMEZZANI, J. H. Endocrine changes in hemidecorticate rats. *Acta Physiol. Lat. Amer.* **9**:24-34, 1959.
- DESSAUER, H. C. Hibernation of the lizard *Anolis carolinensis*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **82**:351-3, 1953.
- DIGIESI, V.; TORTOLI, V.; PALCHETTI, R.; CAPPELLINI, F.; SASSI, R. La captazione tiroidea di  $I^{131}$  nel ratto privato dei bulbi olfattivi. *Rass. Neurol. Veget.* **18**:795-800, 1964.
- EDWARDS, D. A. Non-sensory involvement of the olfactory bulbs in the mediations of social behaviors. *Behav. Biol.* **11**:287-302, 1974.
- EICHELMAN, B.; THOA, N. B.; BUGBEE, N. M.; NG, K. Y. Brain amine and adrenal enzyme levels in aggressive, bulbectomized rats. *Physiol. Behav.* **9**:483-5, 1972.
- FOGLIA, V. G.; WAGNER, E. M.; BARROS, M.; MARQUES, M. La diabetes por pancreatectomia en la tortuga normal y hipofisopriva. *Rev. Soc. Arg. Biol.* **31**:87-95, 1955.
- FRANCK, H. Effects de l'ablation des bulbes olfactifs sur la physiologie génitale chez la Lapine adulte. *C. R. Soc. Biol.* **160**:863-5, 1966.
- GABE, M. Données histologiques sur le pancréas endocrine des lépidosauriens (Reptiles). *Ergeb. Anat.* **42**:1-63, 1970.
- GIAMMANCO, S.; LA GRUTTA, V.; TESSITORE, V.; DI BERNARDO, C. Contributo alla conoscenza delle correlazioni tra bulbi olfattivi e sistema neuroendocrino. — I) accrescimento corporeo e sviluppo dell'apparecchio genitale ed endocrino del ratto sottoposto ad asportazione dei bulbi olfattivi in epoca prepuberale. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **44**:1802-4, 1968.
- GILLES-BAILLIEN, M. Seasonal variations in reptiles. In: *Chemical Zoology; Amphibia and Reptilia*. New York, Academic Press, 1974. v. 9, p. 353-76.
- HOUSSAY, B. A. *Fisiologia humana*. Buenos Aires, El Ateneo, 1975. cap. 9, p. 1120-49.

- HOUSSAY, B. A. & PENHOS, J. C. Pancreatic diabetes and hypophysectomy in the snake *Xenodon merremii*. *Acta Endocrinol.* **35**:313ol. **35**:313-23, **35**:313-23, 190.
- INGRAM, W. R. & BARRIS, R. W. Evidence of altered carbohydrate metabolism in cats with hypothalamic lesions. *Am. J. Physiol.* **114**:562-71, 1936.
- KAADA, B. R. *Acta Physiol. scand.* **24** (suppl. 83):1, 1951. Apud HOUSSAY, B. A. *Fisiologia humana*. Buenos Aires, El Ateneo, 1975. cap. 9, p. 1144.
- KING, E. J. & GARNER, R. J. Colorimetric determination of glucose. *J. Clin. Path.* **1**:30-9, 1957.
- KLING, A. Effects of rhinencephalic lesions on endocrine and somatic development in the rat. *Amer. J. Physiol.* **206**:1395-400, 1964.
- LECUONA, F. A.; PERASSI, N. I.; PALMA, J. A.; LOYBER, I. Plasma corticosterone in rats after electrochemical stimulation of the olfactory bulbs. *J. Endocr.* **54**:353-4, 1972.
- LIMA VERDE, J. S. L.; GROSS, J. L.; MIGLIORINI, R. H. Mobilização de ácidos graxos livres em serpentes (*Philodrias patagoniensis*). *Ciência e Cultura* **26**:312, 1974. Suplemento.
- LONG, C. J. & TAPP, J. T. Significance of olfactory tracts in mediating response to odors in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **72**:435-48, 1970.
- LOPES, N.; WAGNER, E.; BARROS, M.; MARQUES, M. Glucose, insulin and epinephrine tolerance in the normal and hypophysectomized turtle *Pseudemys d'orbigny*. *Acta Physiol. Lat. Am.* **4**:190-9, 1954.
- LOYBER, I. & PALMA, J. A. Changes in serum proteins due to lesions or resection of the olfactory bulbs of the rat. *Experientia* **26**:623-4, 1970.
- LOYBER, I.; PERASSI, N. I.; LECUONA, F. A.; PERALTA, M. E. Neuroendocrinology **13**:93-8, 1973-74. Apud PERASSI, I.; PERALTA, M. E.; LOYBER, I. Removal of olfactory bulbs in rats of different ages: repercussion on some metabolic constants. *Arch. Int. Physiol. Biochem.* **83**:860, 1975.
- LOYBER, I.; LECUONA, F. A.; PALMA, J. A.; PERASSI, N. I. (Abstract) *Medicina* (Buenos Aires) **31**:391-2, 1971. Apud MONTILLA, P.; BELLIDO, M. C.; DORADO, M. L.; MUÑOZ, R. Influencia de la extirpación bilateral de los bulbos olfatorios sobre las fluctuaciones diarias de los niveles de corticosterona plasmática. *Rev. Esp. Fisiol.* **33**:17, 1977.
- MACHADO, S. C. *Mobilização dos ácidos graxos livres em Chrysemys d'orbignyi* (Reptilia, Chelonia). Porto Alegre, UFRGS, 1977. (Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-

- Graduação em Ciências Biológicas, concentração Fisiologia, da UFRGS).
- MACLEAN, P. D. Psychosomatic disease and the "visceral brain" – Recent developments bearing on the Papez Theory of Emotion. *Psychosomat. Med.* **11**:338-53, 1949.
- MACLEOD, P. Structure and function of higher olfactory centers. In: BEIDLER, L. M., ed. *Handbook of sensory physiology*. Berlin, Springer Verlag, 1971. v. 4, p. 182-204.
- MARQUES, M. Efeitos da pancreatectomia parcial na tartaruga *Phrynops hilarii*. *Rev. Bras. Biol.* **15**:349-54, 1955.
- MARQUES, P.M. Effects of prolonged glucagon administration to turtles *Chrysemys d'orbignyi*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **9**:102-9, 1967.
- MARQUES, M. Efeitos do glucagon no metabolismo glicídico de *Chrysemys d'orbignyi* (Reptilia, Chelonia) sob a influência das variações estacionais. *Bol. Zool. Biol. Mar.* (São Paulo) **27**:25-86, 1970.
- MILLER, M. R. Carbohydrate metabolism in amphibians and reptiles. In: MARTIN, A. W., ed. *Comparative physiology of Carbohydrate metabolism in heterothermic animal*. Seattle, University Washington Press, 1961. p. 125-47.
- MILLER, M. R. & WURSTER, D. H. Further studies on the blood glucose and pancreatic islets of lizards. *Endocrinology* **63**:191-200, 1958.
- MONTGOMERY, R. L. & BERKUT, M. K. Behavior and adrenal weights of non-stressed rats with selected limbic lobe lesions. *Physiol. Behav.* **4**:745-8, 1969.
- MONTILLA, P.; BELLIDO, M. C.; DORADO, M. L.; MUÑOZ, R. Influencia de la extirpación de los bulbos olfatorios sobre las fluctuaciones diarias de los niveles de corticosterona plasmática. *Rev. Esp. Fisiol.* **33**:17-20, 1977.
- MUNDT, C.; CAVALCANTI, R.; MARQUES, M. Dihydroergotamine blocking action on epinephrine induced hyperglycemia in turtles and toads. *Acta Physiol. Latinoamer.* **19**:101-5, 1969.
- OLSON, C. E. *Vertebrate paleozoology*. New York, J. Wiley & Sons, 1971. p. 114-6.
- PALMA, J. A.; PERASSI, N. I.; LOYBER, I. Life Sciences (Part 2) 10:909-18, 1971. LECUONA, F. A.; PERASSI, N. I.; PALMA, J. A.; LOYBER, I. Plasma corticosterone in rats after electrochemical stimulation of the olfactory bulbs. *J. Endocr.* **54**:353-4, 1972.
- PENHOS, J. C. Studies on the endocrine pancreas of Amphibians and Reptiles. *Am. Zool.* **13**:667-98, 1973.
- PENHOS, J. C.; HOUSSAY, B. A.; LUJAN, M. A. Total pancreatectomy in lizards. Effects of several hormones. *Endocrinology* **76**:989-93, 1965.

- PENHOS, J. C.; WU, C. H.; REITMAN, M.; SODERO, E.; WHITE, R. LEVINE, R. Effects of several hormones after total pancreatectomy in alligators. *Gen. Comp. Endocrinol.* **8**:32-43, 1967.
- PERASSI, N. I. & LOYBER, I. The effects of stimulation of the olfactory bulbs on the serum proteins of the rat. *Experientia* **26**:1310-1, 1970.
- PERASSI, N. I.; LOYBER, I.; PALMA, J. A. Insulin sensitivity and glucose tolerance in rats without olfactory bulbs. *Neuroendocrinology* **9**:83-9, 1972.
- PERASSI, N. I. & LOYBER, I. Serum free fatty acids and liver glycogen in rats without olfactory bulbs. *Arch. Int. Physiol. Biochem.* **81**:639-45, 1973.
- PERASSI, N. I.; PERALTA, M. E.; LOYBER, I. Removal of olfactory bulbs in rats of different ages: repercussion on some metabolic constants. *Arch. Int. Physiol. Biochem.* **83**:855-62, 1975.
- POOL, J. L. *J. Neurosurg.* **11**:45, 1954. Apud HOUSSAY, B. A. *Fisiologia humana*. Buenos Aires, El Ateneo, 1975. cap. 9, p. 1145.
- PRADO, J. L. A glicemia normal nos ofídios. *Mem. Inst. Butantan São Paulo* **19**:59-68, 1946.
- ROMER, A. S. *Vertebrate paleontology*. London, The University of Chicago Press, 1971. p. 102.
- RUMMLER, G. & BELLÓ, A. A. An estereotaxic instrument for turtle *Chrysemys d'orbigny* (aceito para publicação em *Physiology and Behavior*).
- RUMMLER, G.; FIORI, A. M.; BALDAUF, J. N., BELLÓ, A. A. Avaliação do funcionamento da tireóide após lesões no sistema límbico em *Chrysemys dorbigni*. *Ciência e Cultura* **30**:490, 1978. Suplemento.
- RUMMLER, G.; MARQUES, M.; GROSS, J. L.; BELLÓ, A. A. Sensibilidade à insulina em *Chrysemys d'orbigny* com nervos olfatórios seccionados. *Ciência e Cultura* **30**:485, 1978. Suplemento.
- SCOTT, J. W. & PFAFFMANN, C. Olfactory input to the hypothalamus: eletrophysiological evidence. *Science* **158**:1592-4, 1967.
- SHELLABARGER, C. J.; GORBMAN, A.; SCHATZLEIN, F. C.; MCGILL, D. Some qualitative and qualitative aspects of  $^{131}$  metabolism in turtles. *Endocrinology* **59**:331-9, 1956.
- SNEDECOR, G. W. & COCHRAN, W. G. *Métodos estatísticos*. México, Continental, 1971, p. 703.
- STEFFENS, A. B.; MOGENSEN, G. J.; STEVENSON, J. A. F. Blood glucose, insulin, and free fatty after stimulation and lesions of the hypothalamus. *Am. J. Physiol.* **222**:1446-52, 1972.
- STEVENSON, O. R.; COULSON, R. A.; HERNANDEZ, T. Effects of hormones and carbohydrate metabolism in the alligator. *Amer. J. Physiol.* **191**:95-102, 1957.

- TESSITORE, V.; GIAMMANCO, S.; LA GRUTTA, V. Contributo alla conoscenza delle correlazioni tra bulbi olfattivi e sistema neuroendocrino. — II) Modificazioni istomorfológicas del sistema ipotalamo-neuroipofisiario e di alcune ghiandole endocrine del ratto sottoposto ad asportazione dei bulbi olfattivi in epoca prepuberale. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* **44**:1804-7, 1968.
- VIGNOLY, J. *Fisiologia da Regulação glicêmica*. Rio de Janeiro, Oficinas Gráficas de A Noite, 1938. 139 p.
- WAGNER, E. M. Effect of hypophysectomy in the turtle "Chrysemys d'orbigny". *Acta Physiol. latinoamer.* **5**:219-28, 1955.
- WHITTEN, W. K. The effect of removal of the olfactory bulbs on the gonads of mice. *J. Endocrin.* **14**:160-3, 1956.
- WILLIAMS, R. H. *Textbook of endocrinology*. New York, Saunders, 1974. cap. 10, p. 636.

## APÊNDICE

TABELA A.I

Pesos do fígado de *Chrysemys dorbigni*, machos, adultos, bulbectomizados 8 meses antes. Os valores expressam a média e erro padrão relativos a diversas formas de avaliação de peso. N representa o número de animais utilizados.

Fígado	GRUPO	
	bulbectomizados N = 9	testemunhas N = 10
Peso seco (g)	6,04 ± 1,21	4,05 ± 0,72
Peso seco/peso corporal sem urina (x 10 <sup>3</sup> )	9,4 ± 1,5	6,7 ± 0,7
Peso seco/peso corporal sem urina e sem carapaça e plastrão (x 10 <sup>3</sup> )	16,3 ± 2,7*	11,9 ± 1,8

\* Valor significativamente diferente do correspondente do grupo testemunha.

TABELA A.II

Pesos do pâncreas de **Chrysemys dorbigni** machos adultos, bulbectomizados 8 meses antes. Os valores expressam a média e erro padrão relativos a diversas formas de avaliação de peso. N representa o número de animais utilizados.

Pâncreas	GRUPO	
	bulbectomizados N = 9	testemunhas N = 10
Peso seco (g)	0,222 ± 0,03	0,181 ± 0,03
Peso seco/peso corporal sem urina (x 10 <sup>3</sup> )	0,36 ± 0,03	0,31 ± 0,02
Peso seco/peso corporal sem urina e sem carapaça e plastrão (x 10 <sup>3</sup> )	0,607 ± 0,054*	0,471 ± 0,036

\* Valor significativamente diferente do correspondente ao do grupo testemunha.

TABELA A.III

Pesos correspondentes à *Chrysemys dorsalis*, fêmeas, adultas, com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes e de tartarugas testemunhas. N representa o número de animais de cada grupo, sacrificados no mês de fevereiro. Os valores são expressão da média e erro padrão.

Animal ou correspondente	PESOS (g)	
	n.o. seccionados N = 7	testemunhas N = 7
tartaruga	1886 ± 144	1665 ± 14,5
urina	55,3 ± 16,5	58,9 ± 15,1
carapaça e plastrão	659 ± 54,8	602 ± 47,0
tartaruga sem urina	1831 ± 135	1606 ± 140
tartaruga sem urina e sem carapaça e plastrão	1172 ± 87	1004 ± 100

Sem diferença significativa entre os grupos.

TABELA A.IV

Pesos do fígado de *Chrysemys dorsbigni*, fêmeas, adultas, com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes, e de tartarugas testemunhas. Os valores expressam a média e erro padrão relativos a diversos tipos de avaliação de peso. Peso úmido relativo significa peso do órgão úmido/peso do animal sem urina. Peso seco relativo significa peso do órgão seco/peso do animal sem urina. N representa o número de animais utilizados.

Fígado	GRUPO	
	n.o. seccionados	testemunhas
Peso úmido (g)	70,8 ± 8,0	76,7 ± 9,7
Peso úmido relativo (x 10 <sup>3</sup> )	43,7 ± 2,0	33,6 ± 5,6
Peso seco (g)	22,6 ± 2,4	32,2 ± 4,0
Peso seco relativo (x 10 <sup>3</sup> )	14,0 ± 0,9	12,7 ± 2,2

Sem diferença significativa entre os grupos.

TABELA A.V

Pesos da tireóide de *Chrysemys dorbigni*, fêmeas, adultas, com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes, e de tartarugas testemunhas. Os valores expressam a média e erro padrão relativos a diversos tipos de avaliação de peso. Peso úmido relativo significa peso do órgão úmido/peso do animal sem urina. Peso seco relativo significa peso do órgão seco/peso do animal sem urina. N representa o número de animais utilizados.

Tireóide	GRUPO	
	n.o. seccionados N = 7	testemunhas N = 7
Peso úmido (g)	0,644 ± 0,27	0,476 ± 0,09
Peso úmido relativo (x 10 <sup>3</sup> )	0,382 ± 0,15	0,264 ± 0,05
Peso seco (g)	0,118 ± 0,04	0,068 ± 0,01
Peso seco relativo (x 10 <sup>3</sup> )	0,078 ± 0,03	0,038 ± 0,01

Sem diferença significativa entre os grupos.

TABELA A.VI

Pesos das adrenais de *Chrysemys dorsalis*, fêmeas, adultas, com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes, e de tartarugas testemunhas. Os valores expressam a média e erro padrão relativos a diversos tipos de avaliação do peso. O peso úmido (ou seco) relativo corresponde ao peso do órgão úmido (ou seco)/peso do animal sem urina. N indica o número de animais.

Adrenais	GRUPO	
	n.o. seccionados N = 7	testemunhas N = 7
Peso úmido (g)	0,171 ± 0,026	0,206 ± 0,028
Peso úmido relativo (x 10 <sup>3</sup> )	0,104 ± 0,09	0,117 ± 0,020
Peso seco (g)	0,053 ± 0,006	0,050 ± 0,010
Peso seco relativo (x 10 <sup>3</sup> )	0,035 ± 0,004	0,029 ± 0,006

Sem diferença significativa entre os grupos.

TABELA A.VII

Pesos do pâncreas de *Chrysemys dorbigni*, fêmeas, adultas, com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes, e de tartarugas testemunhas. Os valores expressam a média e erro padrão relativos a diversos tipos de peso. O peso úmido relativo corresponde ao peso do órgão úmido/peso do animal sem urina. O peso seco relativo corresponde ao valor do peso do órgão seco/peso do animal sem urina. N representa o número de animais.

Pâncreas	GRUPO	
	n.o. seccionados N = 7	testemunhas N = 7
Peso úmido (g)	1,577 ± 0,185	1,948 ± 0,126
Peso úmido relativo (x 10 <sup>3</sup> )	0,970 ± 0,038	1,086 ± 0,088
Peso seco (g)	0,419 ± 0,046	0,512 ± 0,025
Peso seco relativo (x 10 <sup>3</sup> )	0,259 ± 0,012	0,287 ± 0,020

Sem diferença significativa entre os grupos.

TABELA A.VIII

Pesos de hipófises em *Chrysemys dorsibigni* fêmeas adultas com nervos olfatórios (n.o.) seccionados 4 meses antes, e de tartarugas testemunhas. Os valores expressam a média e erro padrão relativos a diversos tipos de avaliação de peso. O peso úmido (ou seco) relativo corresponde ao peso do órgão úmido (ou seco)/peso do animal sem urina. N indica o número de animais.

Hipófise	GRUPO	
	n.o. seccionados N = 7	testemunhas N = 7
Peso úmido (g)	6,63 ± 1,05	7,26 ± 0,72
Peso úmido relativo (x 10 <sup>3</sup> )	4,115 ± 0,505	4,008 ± 0,341
Peso seco (g)	1,33 ± 0,20	1,7 ± 0,21
Peso seco relativo (x 10 <sup>3</sup> )	0,83 ± 0,97	0,94 ± 0,11

Sem diferença significativa entre os grupos.

# PESQUISAS

1. HISPINAE. — P. Buck S. J., *Pesquisas* 2 (1958) 145—150.
2. DIE SPRACHE DER BIENEN. — J. O. Nedel S. J., *Pesquisas* 2 (1958) 151—176, 17 fig.
3. CERAMBYCIDAE IN DER SAMMLUNG DES INSTITUTO ANCHIETANO DE PESQUISAS — P. Buck S. J., *Pesquisas* 3 (1959), 577—609.
4. AMERIKANISCHE HISPINAE aus den Sammlungen Amerikanischer Entomologen. E. Uhmann, *Pesquisas* 3 (1959) 611—630, 3 fig.
5. STUDIEN ÜBER DIE BEWEGUNGEN DES GENUS *GEOPLANA*. — J. Hauser S. J. und E. Maurmann S. J., *Pesquisas* 3 (1959) 631—646, 7 fig.
6. BEITRÄGE ZUR KENNTNIS DER SALVADORENISCHEN CHRYSOSELIDEA. — J. u. B. Bechyně, *Pesquisas* 1960, *Zoologia* 6, 73 páginas.
7. HISPINAE AUS INDONESIEN, IV. Teil. — E. Uhmann, *Pesquisas* 1960, *Zoologia* 7, 33 páginas, 6 figuras, 2 mapas.
8. EIN SCHWERESINNESORGAN DER HONIGBIENE. — J. O. Nedel S. J., *Pesquisas* 1960, *Zoologia* 8, 41 pp., 29 fig.
9. REVISION DES PTEROPLIINI — S. Breuning, *Pesquisas* 1961, *Zoologia* 9, 69 pp., 7 fig.
10. HISPINAE AUS VERSCHIEDENEN ERDTEILEN — Erich Uhmann, *Pesquisas* 1961, *Zoologia* 10, 75 pp., 16 Abb.
11. DECIMO-PRIMEIRA NOTA SOBRE BUPRÉSTIMOS NEOTROPICALES, Descripciones y rectificaciones diversas (Coleoptera, Burprestidae) — A. Cobos, *Pesquisas* 1961, *Zoologia* 11, 23 pp., 10 fig.
12. NEUE CERAMBYCIDEN AUS SÜDBRASILIEN — E. Fuchs, *Pesquisas* 1961, *Zoologia* 12, 10 pp.
13. REVISION DES AGAPANTHINI MULS. AMERICAINS — S. Breuning, *Pesquisas* 1962, *Zoologia* 13, 59 pp., 9 fig.
14. AVES SUL-RIOGRANDENSES DO MUSEU DE CAÇA E PESCA — Osw. R. Camargo, *Pesquisas* 1962, *Zoologia* 14, 67 pp.
15. LISTE DER BISHER IN RIO GRANDE DO SUL GEFUNDENEN GALERUCIDEN — Jan Bechyně und Bohumila Springlová de Bechyně, *Pesquisas* 1962, *Zoologia* 15, 68 pp., 9 fig.
16. MÉTODO DE PREPARAÇÃO TOTAL PARA ESTUDO MORFOLÓGICO DE OLIGOQUETAS TERRESTRES — J. Hauser S. J. e B. Radtke, *Pesquisas* 1965, *Zoologia* 16, 7 pp., 2 fig. fora do texto.
17. A FUNÇÃO DA GLÂNDULA MANDIBULAR NO VÔO NUPCIAL DA RAINHA DE ABELHA (*APIS MELLIFICA* L.) — Dr. João Oscar Nedel S. J., *Pesquisas* 1965, *Zoologia* 17, 8 pp., 4 fig. fora do texto.
18. CARIOLOGIA DE *DUGESIA LUGUBRIS* MÜLLER (Turbellaria, Tricladida, Paludicola) — Hero Tse e Jorge Paulete-Vanrell, *Pesquisas* 1966, *Zoologia* 18, 7 pp., 2 fig. fora do texto.
19. BEITRÄGE ZUR TURBELLARIENHISTOLOGIE. Die Histologische Struktur der Kriechsohle von *Bipalium kewense* — Josef Hauser, S. J., *Pesquisas* 1966, *Zoologia* 19, 23 pp., 6 fig. fora do texto.
20. DÉTECTION D'ANTICORPS SPÉCIFIQUES ANTISALMONELLA TYPHI DANS LES TISSUS FIXÉS. I — Technique d'agglutination lente — Jorge Paulete-Vanrell, *Pesquisas* 1967, *Zoologia* 20, 10 pp.
21. NOVO MÉTODO CONQUILIOMÉTRICO E SUA APLICAÇÃO NO GÊNERO *AMPULLARIA* (Gastropoda — Mesogastropoda — Architaenioglossa) — Saul Wittée Neetzow, *Pesquisas* 1968, *Zoologia* 21, 30 pp.
22. ANÁLISE DA CROMATINA SEXUAL EM *DIDELPHIS PARAGUAYENSIS* OKEN, 1816 (Marsupialia) — Lia Carmen Steyer e Jorge Paulete-Vanrell — *Pesquisas* 1969, *Zoologia* nr. 22, 41 pp.
23. O CONSUMO DE OXIGÊNIO EM *STROPHOCHEILUS OBLONGUS MUSCULUS* (BECQUAERT, 1948). — GASTRÓPODO PULMONADO TERRESTRE — Pedro Ernesto Haeser, S. J. PRIMEIRA OCORRÊNCIA DE *SMILODON POPULATOR* LUND, 1842, NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL — Luiz Eurico Moreira, *Pesquisas*, 1970, *Zoologia* nr. 23, 35 pp.
24. I. BEITRÄGE ZUR ANNELIDENHISTOLOGIE: HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DEM KOPULATIONSORGAN VON *PHERETIMA SCHMARDAE* (HORST 1883) — J. Hauser, Ch. Ute Knäpper, C. G. de Paula. MORPHOLOGISCHE UND HISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DER BASALMEMBRAN DER DECKSCHICHTE VON *PHERETIMA SCHMARDAE* (HORST 1883), ANNELIDA, OLIGOCHAETA. — J. Hauser, I. Mombrun de Carvalho. II. OS CELOMÓCITOS EM *PHERETIMA HAWAYANA* — J. Hauser, C. de Paula, M. Engelke, *Pesquisas*, 1972, *Zoologia* nr. 24, 30 pp., 4 pr. fora do texto.
25. ENSAIO DE LISTA SISTEMÁTICA DOS MAMÍFEROS DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL — Walter Adolfo Voss — *Pesquisas* 1973, *Zoologia*, n.º 25, 35 pp.
26. COMUNICAÇÕES DIVERSAS — Flávio Silva e Walter Adolfo Voss — *Pesquisas* 1975, *Zoologia* n.º 26, 16 pp.
27. COMUNICAÇÕES DIVERSAS — *Pesquisas* 1976, *Zoologia*, n.º 27, 28 pp.
28. NOTES SUR QUELQUER APHTHONINI NOUVEAUX OU PEU CONNUS (CHRYSOSELIDEA-ALTSISINAE) COLEOPTERA PHYTOPHAGA — Jan Bechyně e B. Springlova de Bechyně — *Pesquisas* 1976, n.º 28, 15 pp.
29. COMUNICAÇÕES DIVERSAS — *Pesquisas* 1977, *Zoologia*, n.º 29, 30 pp.
30. AVES SILVESTRES LIVRES OBSERVADAS NO PARQUE ZOOLOGICO EM SAPUCAIA DO SUL, BRASIL e outros ensaios. - Walter Adolfo Voss - *Pesquisas* 1977, *Zoologia*, n.º 30, 32 pp.
31. NOTAS SOBRE AVES DO RIO GRANDE DO SUL — Walter Adolfo Voss — *Pesquisas* 1979, *Zoologia* n.º 31, pp.

